

T. 70. — 1944.

Novembre-Décembre. — N^{os} 11-12.

ENCYCLOPÉDIE PÉRIODIQUE DES SCIENCES MÉDICO-BILOGIQUES

Section : MICROBIOLOGIE ET APPLICATIONS A LA BIOLOGIE

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE L. PASTEUR

PAR E. DUCLAUX

ET CONTINUÉES PAR

E. ROUX (1904)

A. CALMETTE (1922)

COMITÉ DE DIRECTION

Gab. BERTRAND, L. MARTIN, G. RAMON,
J. TREFOUËL,

assistés des Professeurs et Chefs de service de l'Institut Pasteur,

Secrétaire général : A. BOQUET.



PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, Boulevard Saint-Germain (6^e)

SOMMAIRE DES N^{os} 11-12

	Pages.
Relations entre la dénaturation et le pouvoir précipitant du sérum antidiphthérique, par J. LOISELEUR, F. NITTI et M ^{lle} M. FAURE.	321
Activité antitoxique apparente, titres anti- γ , anti- α et pouvoir anti-infectieux des sérums anti- <i>perfringens</i> , par MAYLIS GUILLAUMIE, A. KREGUER et M. FABRE.	332
Nouvelle réaction de flocculation de la lèpre, par V. CHORINE.	341
Expériences d'infection par un seul bacille tuberculeux isolé au micromanipulateur, par J. BRETEY.	357
Études sur le pouvoir antisulfamide. IX. — Essais de fractionnement des peptones (multiplicité des facteurs antisulfamides), par J. TABONE, F. NITTI et H. MOUSSET.	366
L'ion calcium dans la physiologie du leucocyte, par ALBERT DELAUNAY.	372
Association des microbiologistes de langue française (sommaire page 4 de la couverture).	376

Œuvres de Pasteur réunies par PASTEUR VALLERY-RADOT, tome VII « Mélanges scientifiques et littéraires. Index analytique de l'œuvre de Pasteur ». Un vol. gr. in-8° de 666 pages. Masson et C^{ie}, édit., Paris, 1939 : 200 fr. (5 dollars 25).

Albert Calmette. Sa vie. Son œuvre scientifique, par P. NOËL BERNARD et LÉOPOLD NÈGRE. *Préface de Pasteur Vallery-Radot. Avant-propos de A. Yersin.* Un vol. de 274 pages. Masson et C^{ie}, édit., Paris, 1939 : 50 fr. (1 dollar 15).

J. BORDET. — Traité de l'immunité dans les maladies infectieuses. Deuxième édit. Un volume de 880 pages. Masson et C^{ie}, édit., Paris, 1939 : 175 fr. (3 dollars 90).

ANDRÉ-R. PRÉVOT. — Manuel de classification et de détermination des bactéries anaérobies. Un volume in-8° de 228 pages (*Monographie de l'Institut Pasteur*). Masson et C^{ie}, édit., Paris, 1940 : 50 fr. (1 dollar 15).

MARGUERITE LWOFF. — Recherches sur le pouvoir de synthèse des flagellés trypanosomides. Un vol. de 244 pages (*Monographie de l'Institut Pasteur*). Masson et C^{ie}, édit., Paris, 1941 : 50 fr. (1 dollar 15).

L. NÈGRE et J. BRETEY. — Vaccination par le B. C. G. par scarifications cutanées. *Préface du professeur A. Marfan.* Un vol. de 104 pages avec 18 fig. (Collection Médecine et Chirurgie : Recherches et applications). Masson et C^{ie}, édit., Paris, 1942 : 25 fr.

L. JUSTIN-BESANÇON et A. LWOFF. — Vitamine antipellagreuse et avitaminoses nicotiniques. Un vol. de 288 pages. Masson et C^{ie}, édit., Paris, 1942 : 90 fr.

MADELEINE MOREL. — L'acide nicotinique facteur de croissance pour « *Proteus vulgaris* » (*Monographie de l'Institut Pasteur*). Masson et C^{ie} édit., Paris, 1943 : 65 fr.

ANDRÉ LWOFF, chef de Service à l'Institut Pasteur. — L'évolution physiologique. Etude des pertes de fonctions chez les Micro-organismes. Hermann et C^{ie}, édit., Paris, 1944 : 215 fr.

N. B. — Le paiement est accepté en toutes monnaies étrangères au cours du dollar au moment du règlement.

PRIX DE L'ABONNEMENT POUR 1944

France et Colonies françaises : 190 fr.; Étranger : 280 fr.; Prix du numéro : 36 fr.
Changement d'adresse : 1 fr.

Secrétariat, 25, rue du Dr Roux, Paris (XV^e).

Cette Revue constitue une des sections de
L'ENCYCLOPÉDIE PÉRIODIQUE DES SCIENCES MÉDICO-BIOLOGIQUES

Prix d'abonnement à l'ensemble des 25 Sections

France et Colonies : 3.700 Fr.

Étranger : Tarif I, 5.500 Fr.; Tarif II, 5.650 Fr.

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

RELATIONS ENTRE LA DÉNATURATION ET LE POUVOIR PRÉCIPITANT DU SÉRUM ANTIDIPHTHÉRIQUE

par J. LOISELEUR, F. NITTI et M^{lle} M. FAURE.

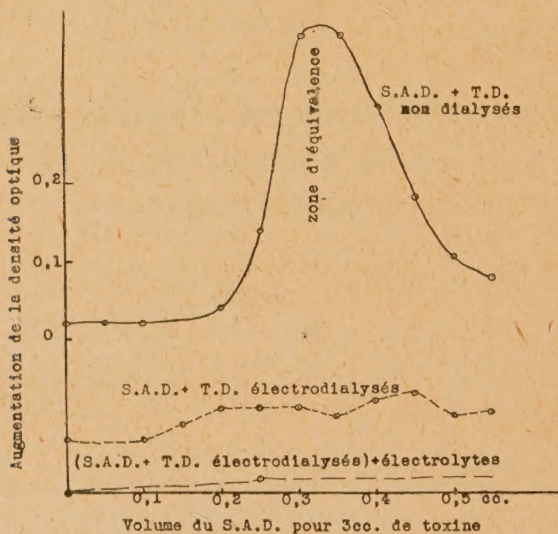
(*Institut Pasteur, Services de Chimie physique,
de Chimie thérapeutique et de Chimie biologique.*)

Ramon (1) a montré que le chauffage du sérum antidiphthérique (cheval) vers 56-58° entraîne la disparition du pouvoir précipitant, tandis que le pouvoir antitoxique reste sensiblement inaltéré. Pour interpréter cette expérience, on peut soit attribuer au sérum la présence simultanée d'anticorps différents que le chauffage aurait dissociés, soit — plus simplement — considérer la réaction toxine/antitoxine comme insuffisante pour entraîner par elle seule la floculation : il lui faut encore l'intervention d'un facteur supplémentaire, différent de l'antitoxine proprement dite, disparaissant par le chauffage et par conséquent de plus grande sensibilité à la dénaturation. Or, d'autres processus de dénaturation, tels que la simple dialyse, aboutissent au même résultat. Nous comparons ici les propriétés du sérum dénaturé soit par dialyse, soit par chauffage.

I. Pour le sérum frais, on sait d'abord (2, 3) que la dialyse fait disparaître le pouvoir précipitant. Voici l'expérience.

- (1) G. RAMON, ces *Annales*, 1923, **37**, 1001.
- (2) J. BORDET, *Traité de l'Immunité*, Paris, 1939.
- (3) S. SCHMIDT, *C. R. Soc. Biol.*, 1930, **103**, 101.

On soumet à l'électrodialyse ($t = 35^{\circ}$) d'une part le sérum antidiphthérique et d'autre part la toxine. L'électrodialyse du sérum doit être d'autant plus prolongée que ce dernier est plus riche en unités antitoxiques. Dans cette opération, la toxine ne subit pas de modification apparente, mais le sérum cède, avec ses électrolytes, son euglobuline qu'on élimine par centrifugation. Les mêmes sérum et toxine, non traités par dialyse mais amenés à la même dilution que les éléments dialysés, flocculent la toxine en trente minutes à 37° . Pour plus d'exactitude, nous mesurons au photomètre la turbidité qui précède la floculation. La courbe 1 (courbe pleine) reproduit les valeurs de la densité optique, mesurée après quinze minutes à 37° . L'expérience, reproduite avec les mêmes éléments



COURBE 1.

dialysés (courbe pointillée), est négative et le reste encore malgré la réintroduction des électrolytes (courbe hachurée).

Il faut remarquer que cette technique de fractionnement du sérum par dialyse entraîne déjà sa dénaturation : les globulines deviennent polydispersées et l'euglobuline, en particulier, est formée de particules dont la taille moyenne est supérieure à celle des particules existant dans le sérum entier (4 a).

Or voici, d'après Ramon (4 b), le pouvoir floculant propre à chacune des protéines isolées du sérum. L'euglobuline fait apparaître un précipité pour la petite quantité d'unités antitoxiques qu'elle renferme. Pour la pseudoglobuline, plus riche pourtant

(4 a) E. WOLLMAN, *La nature chimique des anticorps*, Paris, 1943.

(4 b) G. RAMON, *C. R. Soc. Biol.*, 1922, **86**, 813.

en antitoxine, la floculation n'a lieu qu'avec un retard considérable ou même pas du tout. Si alors on additionné d'euglobuline le mélange précédent, un précipité apparaît rapidement, correspondant à la teneur globale du mélange en antitoxine.

On peut rapprocher de ces faits une expérience de Pappenheimer (5) qui démontre l'aptitude particulière de l'euglobuline à précipiter. Pappenheimer prépare différents animaux avec la toxine diphtérique ; la comparaison des sérums montre que l'allure des propriétés précipitantes dépend de la façon selon laquelle l'animal a construit ses anticorps. Chez le cheval, l'anticorps est renfermé dans la pseudoglobuline : il y a phénomène de zone. Chez le lapin, au contraire, où l'anticorps est surtout renfermé dans l'euglobuline, il y a toujours précipitation immédiate (6).

Il résulte donc des expériences précédentes que la *dénaturation parallèle à l'élimination de l'euglobuline par dialyse entraîne la disparition du pouvoir précipitant*.

Nota. — La conclusion précédente n'a évidemment de signification que pour les fractions du sérum définies par cette technique de dialyse :

a) Si l'on s'adresse à l'électrophorèse pour fractionner le sérum, la distinction précédente entre eu- et pseudoglobulines disparaît. Les globulines se classent alors en trois fractions principales, α , β , γ , de mobilités décroissantes, l'eu- et la pseudoglobuline apparaissant comme des mélanges à proportions variables de ces trois fractions (prépondérance de β et γ dans l'euglobuline, de α dans la pseudoglobuline).

b) Si l'on s'adresse au sulfate d'ammonium pour fractionner les globulines (élimination de l'euglobuline par $C = \frac{s}{3}$, précipitation de la pseudoglobuline par $C = \frac{s}{2}$), on définit de nouvelles globulines. Pappenheimer (7 a) signale que cette pseudoglobuline se suffit à elle seule pour entraîner la précipitation.

c) Pour simplifier, nous n'envisageons ici ni le mécanisme même de la formation des floculats, ni l'intervention indispensable des lipides (7 b) dont la répartition différente sur les groupes α - β - γ des globulines pourrait expliquer la divergence des résultats précédents.

(5) A. M. PAPPENHEIMER, *J. exp. Med.*, 1940, **71**, 263.

(6) L'expérience est aussi probante en prenant l'ovalbumine comme antigène.

(7 a) A. M. PAPPENHEIMER JR., H. P. LUNDGREN et J. W. WILLIAMS, *J. exp. Med.*, 1940, **71**, 247.

(7 b) F. L. HORSFALL et K. GOODNER, *J. exp. Med.*, 1935, **62**, 485 ; *J. Immunol.*, 1936, **31**, 135.

II. Le chauffage modéré du sérum (deux heures à 57°) entraîne aussi une dénaturation intéressant son euglobuline. Voici comment cette dénaturation a été démontrée (8) :

On constate d'abord (9) que le chauffage rend le sérum opalescent (tableau I), phénomène constant, plus ou moins marqué selon l'origine du sérum et sa pigmentation initiale.

Cette opalescence traduit la diminution de la solubilité de cer-

TABLEAU I. — Augmentation de la densité optique du sérum consécutivement au chauffage (deux heures à 57°).

	SÉRUMS NORMAUX		SÉRUMS ANTIDIPHTÉRIQUES		
	n° 1	n° 2	n° 3	n° 4	n° 5
Avant chauffage . .	0,442	0,346	0,235	0,238	0,167
Après chauffage . .	0,148	0,493	0,256	0,290	0,190

taines des protéines du sérum, ce qui prouve la dénaturation de ces dernières conformément à la définition de Sørensen.

Une expérience très simple met en évidence les modifications liées à cette dénaturation. Dialysons, côte à côte, dans deux sacs de cellophane, un sérum quelconque (normal ou antidiphtérique) frais et le même sérum chauffé. Pour le sérum frais, à partir d'un abaissement suffisant de la concentration des électrolytes, il apparaît un trouble, puis la précipitation de l'euglobuline en flocons légers de faible importance.

Or, pour le sérum chauffé :

1° On constate toujours un retard considérable dans la précipitation de l'euglobuline, comme si l'euglobuline s'était accolée, au cours du chauffage, à d'autres protéides sériques intervenant vis-à-vis d'elle comme colloïdes protecteurs ;

2° Quand l'euglobuline du sérum chauffé se met enfin à précipiter, le précipité est grenu et plus abondant que dans le cas du sérum frais : l'euglobuline a entraîné avec elle les protéides qui avaient retardé sa précipitation.

La courbe II *a* reproduit les variations de la turbidité au cours de la dialyse, en mesurant indirectement le degré de la dialyse par l'abaissement de la conductivité λ . On constate sur la courbe du sérum chauffé un retard considérable à l'opacification, témoignant que l'euglobuline ne possède plus dans le sérum chauffé les mêmes degrés de liberté que dans le sérum frais. Le phéno-

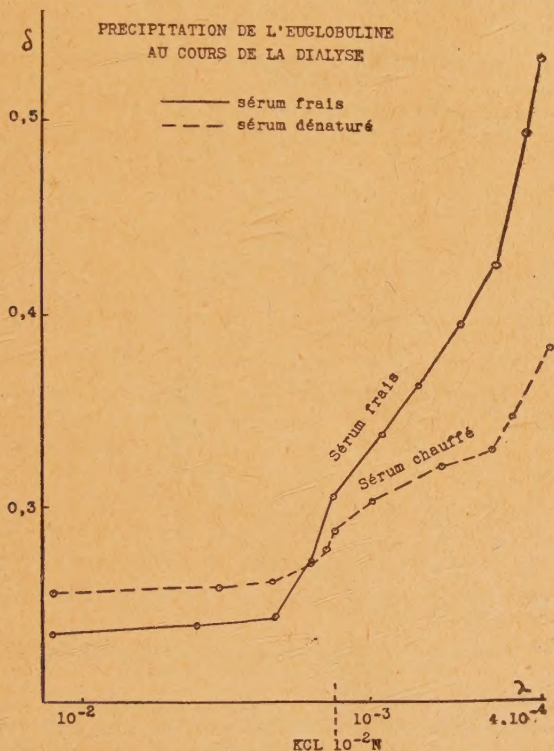
(8) J. LOISELEUR, M^{lles} C. CROVISIER et J. TILLARD, *C. R. Acad. Sci.*, séance du 29 novembre 1943.

(9) Le chauffage entraîne une faible augmentation de pH (de 7,73 à 7,81) consécutive au déplacement de l'acide carbonique.

mène est encore plus démonstratif en opérant avec du sérum dilué (courbe II b). La dénaturation du sérum chauffé a donc intéressé les rapports réciproques entre l'euglobuline et les autres protéides du sérum.

Examinons maintenant ce que sont devenues les propriétés anti-corps au cours de cette dénaturation

Le sérum frais présentait tous les tests de la condensation pro-



COURBE II (a). — Mise en évidence, par dialyse, de la dénaturation du sérum chauffé.

Avec le sérum non dilué. — Au départ, on note l'opalescence (densité optique plus élevée) du sérum chauffé.

A mesure que la dialyse (mesurée par l'abaissement de la conductivité λ) se poursuit, l'euglobuline précipite dans le sérum frais dont la densité optique augmente rapidement. Pour le sérum chauffé, on constate un retard dans la précipitation de l'euglobuline qui s'est donc combinée, au cours du chauffage, avec les autres protéides du sérum.

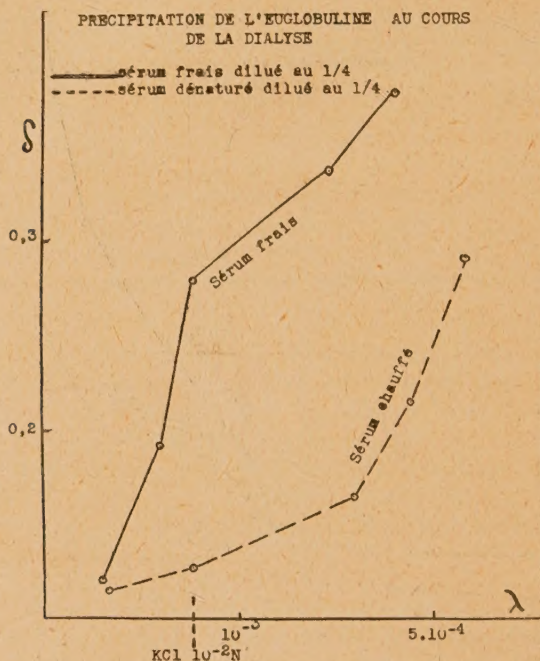
gressive des produits de la réaction toxine/antitoxine, à savoir l'augmentation progressive de la viscosité (10, 11), l'augmentation de

(10) P. LECOMTE DU NOUÏ et M^{lle} V. HAMON, ces *Annales*, 1937, 56, 359.

(11) J. LOISELEUR, C. R. Acad. Sci., 1938, 207, 186.

la turbidité et finalement celle de la floculation. Après le chauffage du sérum, toutes ces épreuves deviennent négatives. Les courbes III montrent l'évanouissement du test de la viscosité à mesure de la dénaturation.

Il ne reste, dans le sérum chauffé, que le phénomène primaire du pouvoir antitoxique, établissant la réalité de la combinaison toxine/antitoxine ; mais cette combinaison reste latente à l'échelle



COURBE II (b). — Mise en évidence, par dialyse, de la dénaturation du sérum chauffé.

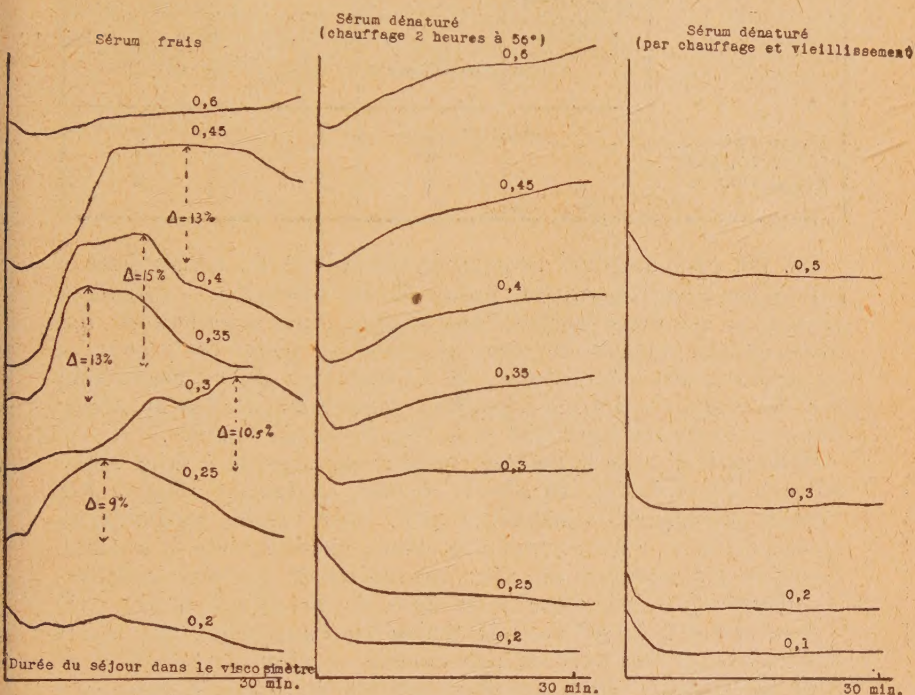
Avec le sérum dilué au 1/4. — Au départ, la dilution par l'eau distillée diminue la stabilité de l'euglobuline dans le sérum frais, entraînant de ce fait une augmentation immédiate de sa densité optique. Par contre, la dilution n'a pas modifié l'opalescence du sérum chauffé. La dilution masque ainsi le premier des phénomènes précédents (l'opalescence consécutive au chauffage), mais en fait apparaît un autre : la plus grande stabilité, au cours de la dilution, du sérum chauffé, grâce à l'« accrochage » de son euglobuline sur les autres protéides sériques.

Au cours de la dialyse, les phénomènes précédents deviennent plus accentués : l'euglobuline du sérum frais tend à précipiter rapidement, tandis que l'euglobuline du sérum chauffé présente une stabilité plus marquée.

moléculaire et ne peut être décelée que par l'expérimentation sur l'animal.

La dénaturation par la chaleur a fait ainsi disparaître la possi-

bilité de la condensation de la toxine et de l'antitoxine ; parallèlement à la perturbation de l'euglobuline, les propriétés du sérum chauffé sont devenues comparables (12) à celles du sérum frais électrodialysé, privé d'euglobuline (tableau II).



COURBE III. — Influence de la dénaturation sur la condensation de l'anatoxine et de l'antitoxine diphtérique.

Les mélanges à proportions variables [*a* de sérum A. D. (550 U/c.c.) dans 3 c.c. d'anatoxine D (47 U/c.c.)] sont introduits dans le viscosimètre ($t = 31^\circ$), qui permet de déceler et de suivre, par l'augmentation de la viscosité, les étapes de la condensation de l'anatoxine et de l'antitoxine (la valeur *a* est indiquée sur chaque courbe).

A gauche : Sérum frais. Courbes caractéristiques présentant, dans la zone d'équivalence, le maximum de l'augmentation de la viscosité. Chaque courbe présente alors une allure caractéristique en cloche, la branche descendante de la courbe traduisant la floculation qui se produit à l'intérieur du viscosimètre.

Au milieu : Sérum dénaturé par chauffage deux heures à 56° . Ralentissement considérable des phénomènes : la viscosité augmente très lentement et les courbes perdent toute signification.

A droite : Sérum dénaturé par chauffage et vieillissement (six années). Disparition de tout phénomène.

(12) On peut rappeler à ce propos une expérience de E. RENAUX (*C. R. Soc. Biol.*, 1924, 90, 964) : il suffit d'introduire du sérum antidiph-

TABLEAU II. — Combinaison de la toxine et de l'antitoxine diphtériques.

	COMBINAISON latente à l'échelle moléculaire	CONDENSATION DES PRODUITS DE LA REACTION		
		Effet sur la viscosité	Effet sur la densité optique	Apparition de floculats
Sérum frais . . .	+	+	+	+
Sérum dialysé . .	+	0	0	0
Sérum chauffé . .	+	0	0	0

III. On peut attribuer le pouvoir précipitant du sérum frais à la présence d'un constituant, probablement lipidique, — spécifique ou non —, peut-être localisé dans le groupe des euglobulines, qui interviendrait comme facteur d'instabilité pour déclencher la combinaison toxine/antitoxine, la dénaturation de ce constituant par électrodialyse ou par chauffage faisant disparaître en même temps le facteur d'instabilité et la possibilité de floculer.

Pour vérifier cette hypothèse, nous avons cherché à faire apparaître la précipitation du sérum chauffé, en faisant appel à des facteurs extérieurs d'instabilité (13). Des essais préliminaires montrent que ce résultat peut être obtenu par le sulfate de sodium, le sulfate d'ammonium ou, plus favorablement, par leur mélange, à concentration inférieure à la dose de précipitation (14). On dissout d'abord le sel dans la toxine ou l'anatoxine, qui sert à la titration, et l'on prépare une gamme en ajoutant à 3 c. c. de cette toxine salée des volumes croissants du sérum à titrer.

Si l'on introduit dans le viscosimètre ($t = 31^{\circ}$) ces mélanges immédiatement après leur préparation, on constate dans la zone d'équivalence (courbe IV) une augmentation notable de la viscosité. Le phénomène est spécifique, quoique de moins grande amplitude qu'avec le sérum frais : la présence du sel a donc entraîné la condensation des produits de la réaction toxine/antitoxine.

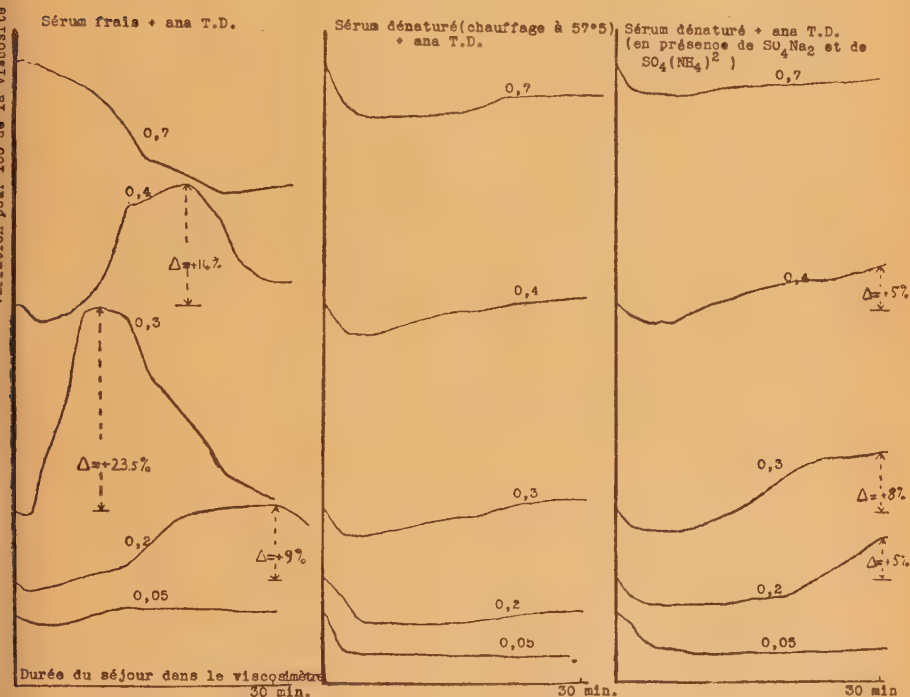
térique frais dans un sérum dénaturé (par chauffage ou vieillissement) pour rendre possible sa titration. La floculation du mélange a lieu dans la zone d'équivalence correspondant à la somme des unités antitoxiques des deux sérums, mais seul le sérum frais intervient dans la formation du floculat.

(13) Dans une expérience du même ordre, P. GRABAR et J. OUDIN (ces *Annales*, 1943, 69, 195) ont amené, par l'introduction d'alcool, la précipitation de complexes antigène/anticorps en dehors de la zone d'inhibition.

(14) LiCl, NaCl, KCl sont sans action, quelles que soient leurs concentrations. Le phénomène observé ici ne présente aucune relation avec la force ionique du milieu.

Si l'on porte la gamme précédente à l'étuve à 50°, la condensation va plus loin et aboutit à l'augmentation de la turbidité et finalement à la floculation, ces deux phénomènes restant localisés dans la zone d'équivalence. Il est à noter que la floculation est moins rapide qu'avec le sérum frais et requiert un séjour de plusieurs heures à l'étuve à 50°.

Cette action des sels peut être appliquée à la titration pratique



COURBE IV. — Influence des facteurs d'instabilité sur la condensation de l'anatoxine et de l'antitoxine diphtériques.

Même technique que dans la courbe III.

A gauche : Sérum frais. Maximum de l'augmentation de la viscosité ($\Delta = +23,5$ p. 100) dans la zone d'équivalence.

Au milieu : Sérum dénaturé par chauffage deux heures à 57,5. Ralentissement considérable de la réaction : les courbes perdent toute signification.

A droite : Même sérum dénaturé, mais la réaction a lieu en présence de SO_4Na_2 et de $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$. Les courbes reprennent leurs variations caractéristiques, avec maximum ($\Delta = +8$ p. 100) dans la zone d'équivalence.

des sérums qui ont subi une tyndallisation pour assurer leur conservation. En voici un exemple. On dissout à froid 4,94 g. de $\text{SO}_4\text{Na}_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ et 5,6 g. de $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ dans 45 c. c. d'anatoxine

un séjour de trente minutes à l'étuve à 50°. (Le sérum expérimenté titre ainsi 225 U/cc.)

On peut plus simplement prolonger pendant dix à quinze heures le séjour à l'étuve et apprécier la floculation (qui attribue ici un titre compris entre 225 et 237 U/cc.). Cette technique est moins précise que la précédente.

En résumé, le sérum dénaturé par électrodialyse ou par chauffage perd son pouvoir précipitant. Un sérum dénaturé par chauffage retrouve son pouvoir flocculant spécifique par la présence de sulfate de sodium (ou d'ammonium) intervenant comme facteur d'instabilité (16).

protéides sériques. La concentration optimum des sels doit être ajustée pour chaque sérum : elle est d'autant plus faible que le titre du sérum est plus élevé.

(16) Nous adressons tous nos remerciements à M. RAMON d'une part et à MM. LAFFAILLE et CASSAGNE d'autre part qui ont mis à notre disposition les sérums et toxines nécessaires à nos expériences.

ACTIVITÉ ANTITOXIQUE APPARENTE, TITRES ANTI- ζ , ANTI- α ET POUVOIR ANTI-INFECTIEUX DES SÉRUMS ANTI-*PERFRINGENS* (*)

par MAYLIS GUILLAUMIE, A. KREGUER et M. FABRE.

Rosenthal en 1910 (1) et Weinberg en 1915 (2) signalent les propriétés préventives des sérums anti-*perfringens* obtenus sur animaux immunisés par des injections répétées de cultures de *B. perfringens*. A la même époque, Veillon (3) prépare un sérum anti-*perfringens* doué d'une activité appréciable.

A la suite de leurs recherches sur la sérothérapie des plaies, Leclainche et Vallée en 1915 (4), puis Vincent et Stodel (5) proposent l'emploi de sérums polyvalents prélevés sur des chevaux immunisés par des séries d'injections de cultures de *B. perfringens* associées aux cultures de diverses espèces microbiennes.

En 1916, Klose (6) prépare un sérum légèrement antitoxique et anti-infectieux en utilisant des filtrats de cultures *perfringens* de quelques jours. La même année, Weinberg (7) rapporte des faits montrant que les toxines *perfringens* qu'il a employées pour immuniser un mouton sont peu nocives en injections intraveineuses et faiblement antigéniques; en 1917, Sacquépée (8) s'exprime en ces termes : « En culture, le *B. perfringens* ne semble pas sécréter une toxine de quelque énergie. » Cependant, Bull et Pritchett (9) établissent que le *B. perfringens* élabore dans cer-

(*) Communication présentée à la séance du 2 décembre 1943 de l'Association des Microbiologistes de Langue Française.

(1) G. ROSENTHAL, *C. R. Soc. Biol.*, 1910, **68**, 1044.

(2) M. WEINBERG, *C. R. Acad. Sci.*, 1^{er} mars 1915, **160**, 325.

(3) A. VEILLON, cité par E. SACQUÉPÉE et DE LAVERGNE, *La Presse Médicale*, 1919, **27**, 85.

(4) E. LECLAINCHE et H. VALLÉE, *Bull. Acad. Méd.*, 23 février 1915, **73**, 280; *Arch. Méd. et Pharm. Milit.*, 1916, **66**, 245 et 774; *Presse Méd.*, 1917, **187**; *J. Chir.*, 1917, **14**, 162.

(5) H. VINCENT et G. STODEL, *C. R. Acad. Sci.*, 1918, **167**, 137, 245 et 305; *Ibid.*, 1918, **168**, 188.

(6) F. KLOSE, *Zeitschr. Hyg.*, 1^{er} mars 1916, **82**, 197; *Münch. med. Woch.*, 16 mai 1916, **63**, 723.

(7) M. WEINBERG, *Proc. Roy. Soc. Med.*, 40 mars 1916, **9**, 119.

(8) E. SACQUÉPÉE, *Arch. Méd. Pharm. et Milit.*, 1917, **68**, 141.

(9) C. G. BULL et I. W. PRITCHETT, *J. exp. Med.*, 1917, **26**, 419, 603 et 867. — C. G. BULL, *C. R. Soc. Biol.*, 22 décembre 1917, **80**, 957; *Arch. Méd. et Pharm. Milit.*, 1918, **70**, 108.

taines conditions une exotoxine très active et préparent, en 1917, de bons sérums anti-*perfringens* en inoculant à divers animaux des doses croissantes de toxine filtrée. Egalement en 1917, Weinberg et Seguin utilisent aussi comme antigène la toxine *perfringens* ; ces derniers auteurs insistent alors beaucoup sur l'activité du sérum fourni par le premier cheval qu'ils immunisent : 1/100 de centimètre cube de ce sérum neutralise, *in vitro*, une dose mortelle de toxine *perfringens* (titrages sur cobayes, injections intraveineuses) ou 1 à 2 D.M. de culture (titrages sur cobayes, injections intramusculaires). Les tentatives de traitement des blessés de guerre atteints de gangrène gazeuse montrent ensuite à Weinberg et Seguin que ce sérum antitoxique a la même valeur pratique que les sérums anti-microbiens prélevés sur des animaux préparés par des injections de doses massives de bacilles *perfringens* (10) : ayant enregistré des guérisons dans des cas graves, Weinberg et Seguin considèrent comme propre à l'usage thérapeutique tout sérum qui, à la dose de 1/100 de centimètre cube neutralise 1 à 2 D.M. de culture *perfringens*.

Au cours des années suivantes, les méthodes de titrage des sérums anti-*perfringens* varient d'un laboratoire à l'autre. En 1931, le Comité international d'Hygiène réuni à Londres propose un sérum étalon pour titrer les toxines *perfringens* destinées à l'évaluation de l'activité antitoxique des sérums thérapeutiques. A partir de 1936, les publications de M. Guillaumie avec M. Weinberg, puis avec A. Kreguer et M. Fabre, mettent en évidence que le titre antitoxique d'un même sérum anti-*perfringens*, dosé par la méthode des injections intraveineuses à la souris, peut varier *considérablement* avec les échantillons de toxine *perfringens* utilisés dans le titrage lorsque ces toxines sont préparées dans divers bouillons avec différentes souches de *B. perfringens* [souche française Lechien (11), souche danoise SS ou souche allemande A 100 P] (12). Les titrages *in vitro* et *in vivo* révèlent que de telles toxines contiennent en proportions variables au moins 3 antigènes ; ceux-ci sont à présent désignés par les lettres α , ζ , η : α est un facteur hémolytique non nécrosant ; ζ possède des propriétés hémolytiques

(10) M. WEINBERG et P. SEGUIN, *La gangrène gazeuse*, 1917, 331 à 336, Masson, éditeur, Paris. — M. WEINBERG, *C. R. Soc. Biol.*, 22 décembre 1917, 80, 958.

(11) *C. R. Soc. Biol.*, 1936, 123, 661 ; *Ibid.*, 1937, 126, 656 ; *Ibid.*, 1938, 127, 1084 ; *C. R. Acad. Sci.*, 1937, 204, 1012 ; *Bull. Acad. Méd.*, 10 janvier 1939, 124, 2 ; *Rev. Immunol.*, 1939, 5, 5. — M. GUILLAUMIE, *ces Annales*, 1941, 66, 204.

(12) M. GUILLAUMIE, A. KREGUER et M. FABRE, *ces Annales*, 1942, 68, 513 ; *Ibid.*, 1944, 70, 207 ; *C. R. Soc. Biol.*, 1943, 137, 757 ; *Ibid.*, 1944, 138, 29 ; milieux ensemencés : bouillons Vf et digestions chlorhydropeptiques de foie ou de placenta.

et nécrosantes; η , nocif en injection intraveineuse, ne provoque pas de nécrose en injection intradermique. Nous avons montré que les résultats du titrage d'un même sérum avec les toxines complexes que nous avons préparées avec les souches Lechien, SS et A 100 P peuvent différer entre eux de 50 et même 65 p. 100 (titrages sur souris, veines). Ipsen et Davoli (1939) ont aussi constaté des discordances de cet ordre en utilisant dans les mêmes conditions des toxines élaborées par la souche Lechien. Ces dosages n'indiquent par conséquent qu'une valeur *antitoxique apparente* du sérum examiné; ils ne précisent pas sa teneur réelle en antitoxines α , ζ , η ; les quelques chiffres que nous rapportons dans le tableau I étaient bien cette donnée: le titre apparent du sérum 224, par exemple, déterminé avec la toxine complexe E 31 préparée avec la souche Lechien, est de 150 unités (en effet, 1/150 de centimètre cube de ce sérum neutralise la dose d'épreuve

TABLEAU I. — Pouvoir antitoxique apparent, titres anti- ζ et anti- α de divers sérums anti-*perfringens*.

SÉRUMS anti- <i>perfringens</i>	POUVOIR antitoxique apparent (titrages avec la toxine E ₃₁) [unités]	TITRE ANTI- ζ (titrages avec la toxine ES ₁) [unités internationales]	TITRE ANTI- α (titre anti- hémolytique) [unités internationales]
837.	100-120	15-20	600-800
224.	150	20	500
211.	200-300	30-40	750
415.	350-400	35	1.200
45039.	400	40	600
844.	300-400	60-80	400-500
135.	150-175	63	20
37.	200-300	80	50-100
341.	700	150-175	2.000
3a.	1.200	150	4.000
3b.	1.400	150	2.100
51.	500-600	160	600

de la toxine E 31, c'est-à-dire 21 doses mortelles de cette toxine); or, ce sérum, titré *in vitro* avec une toxine riche en hémolysine α et *in vivo* avec une toxine à facteur ζ prédominant, contient 500 unités internationales (u. i.) d'antitoxine α et seulement 20 u. i. d'antitoxine ζ ; le sérum 415, à pouvoir antitoxique apparent compris entre 350 et 400 unités d'après les titrages avec la toxine E 31, titre 1.200 u. i. anti- α , 35 u. i. anti- ζ et 220 à 250 u. i. anti- η ; le sérum 135 (pouvoir antitoxique apparent: 150 à 175 unités) titre 20 u. i. anti- α seulement, 63 u. i. anti- ζ et 320 u. i. anti- η .

L'usage ne s'est pas encore établi, dans les divers centres de préparation et de titrage des sérums anti-*perfringens*, d'indiquer

la nature de l'antitoxine dosée. Weinberg, Davesne et Prévot (1932) ayant employé une toxine produite dans du bouillon VI par la souche Lechien pour titrer par la méthode des injections intraveineuses à la souris les sérums anti-*perfringens* qu'ils ont mentionnés dans leurs travaux (13), ont probablement évalué l'activité antitoxique apparente de ces immunsérums. La confrontation des faits publiés en Angleterre (Glenny, 1933), en Allemagne (Prigge, 1936), en U.R.S.S. (Glotova, 1937), au Danemark (Ipsen, 1939) permet de penser que dans ces différents pays les sérums anti-*perfringens* sont examinés au point de vue de leur richesse en antitoxine ζ . Quant au sérum étalon international, il contient les antitoxines α et ζ à raison de 20 unités par centimètre cube et Ipsen lui attribue le titre de 20 unités anti- η (14).

Dans un article récent sur l'action léthale de l'hémolysine α nous avons rappelé les expériences de Bull et Pritchett (1917) montrant que l'injection intraveineuse de toxine *perfringens* hémolytique provoque chez le pigeon une destruction massive des globules rouges et la mort des animaux, alors que l'injection intramusculaire de la même toxine détermine la mort sans altérer le sang. De ces observations, Bull et Pritchett ont tiré la conclusion que l'hémolysine n'est pas l'agent toxique essentiel de la toxine *perfringens*. A la suite d'expériences d'un autre ordre, Prigge (1936), Zeissler, Görtzen (1937), ont pensé que le facteur ζ est l'agent principal de la nocivité *in vivo* de la toxine *perfringens*. Benzoni (1938) a formulé la même conclusion que Bull et Pritchett. Ces données concordantes permettent de considérer à juste raison que la richesse des sérums en antitoxine ζ présente en clinique une importance de premier plan, mais n'autorisent cependant pas à conclure que leur teneur en antitoxine α et η est en toutes circonstances d'un intérêt tout à fait secondaire.

Après avoir évalué sur souris le taux en antitoxine ζ d'une série de sérums anti-*perfringens* dont nous connaissions déjà l'activité antitoxique apparente, nous avons déterminé *in vitro* leur titre anti-hémolytique, puis nous avons recherché sur cobayes, par le procédé des injections intramusculaires, l'effet anti-infectieux et la valeur curative de 10 sérums différant par leur teneur en antitoxine ζ ou par leur titre anti- α , dans le but de les comparer au sérum éprouvé en clinique par Weinberg et Seguin et de déterminer aussi à quel degré l'antitoxine α renforce l'efficacité des sérums anti-zétatoxiques. Au cours de cette étude nous n'avons malheureusement pas eu la possibilité d'examiner toutes les variétés de sérums qu'il aurait été intéressant d'envisager. Tous ceux que nous avons employés provenaient de chevaux immunisés

(13) P. WEINBERG, J. DAVESNE et A.-R. PRÉVOT, ces *Annales*, 1932, 49, 251.

(14) J. IPSEN, *Bull. Org. Hyg. S. D. N.*, 1939, 8, 917.

par des injections de toxine *perfringens* centrifugée et formolée (anatoxine *perfringens*) : l'anatoxine a été préparée, ainsi que nous l'avons déjà dit (15), avec des toxines complexes dans le but d'obtenir des sérums à propriétés multiples susceptibles par là-même d'entraver les divers effets (hémolytiques, nécrosants et neurotoxiques) du *B. perfringens* ; nous avons brièvement indiqué par ailleurs les doses d'anatoxine injectées aux chevaux et le rythme des injections (16) ; ajoutons que d'après nos observations *in vitro*, les immunsérums notés dans le tableau I agglutinent rapidement les suspensions de *B. perfringens* dans l'eau physiologique.

Pour déterminer l'activité antitoxique apparente et le titre anti- ζ de ces divers sérums anti-*perfringens* par le procédé des injections intraveineuses aux souris de 17 à 20 g., nous avons respectivement utilisé la toxine E 31 préparée avec la souche Lechien et la toxine ES 1 élaborée par la souche SS ; dans les deux cas nous avons pris comme dose d'épreuve de toxine le poids de toxine qui est neutralisé par 1/20 de centimètre cube de sérum étalon international, c'est-à-dire par une unité internationale d'antitoxine. Cette unité neutralise 1,3 mg. de la toxine E 31 et 2,3 mg. de la toxine ES 1 à facteur ζ prédominant ; d'après les titrages sur souris (veines), la dose minima mortelle de ces toxines est respectivement égale à 0,06 et 0,07 mg.

La détermination de l'effet anti-infectieux et de la valeur curative des mêmes sérums a été effectuée sur cobayes de 290 à 350 g. Dans cette note nous rapporterons seulement les observations que nous avons faites en comparant les propriétés anti-infectieuses de 10 sérums. L'activité anti-infectieuse de chacun d'eux est évaluée en ajoutant à une quantité déterminée d'une culture de dix-huit heures de *B. perfringens*, souche Lechien ou SS, des valeurs décroissantes du sérum à titrer. Les mélanges de culture et de sérum, amenés au volume de 1 c. c. par addition d'eau physiologique, sont laissés en contact pendant quarante-cinq minutes à la température de 37° puis injectés à des cobayes dans les muscles intacts de la cuisse. Les cultures des 2 souches étudiées déterminent à coup sûr des lésions typiques et la mort des cobayes lorsqu'elles sont introduites dans les muscles sains de la cuisse. Mais, étant donné que la virulence des cultures de *B. perfringens* obtenues à des dates différentes peuvent présenter des fluctuations, bien que les cultures soient préparées dans les mêmes conditions, tous nos titrages n'ont pas été faits vis-à-vis d'un même nombre de doses mortelles de culture. Dans les expériences réalisées avec la souche SS, le titrage a été effectué une fois vis-à-vis de 2 D.M.

(15) M. GUILLAUMIE, ces *Annales*, 1941, 66, 330 et 331, renvoi 2.

(16) M. GUILLAUMIE, ces *Annales*, 1941, 66, 225 et 226, renvoi 47 ; *C. R. Soc. Biol.*, 1942, 136, 73.

de culture, deux fois vis-à-vis de 4 et une fois avec 1 D.M. 1/2 ; la dose d'épreuve de culture était de 0,05 c. c. dans les trois premiers titrages et de 0,015 c. c. dans le quatrième. Dans les deux expériences faites avec la souche Lechien, nous avons employé comme dose d'épreuve de culture 0,15 c. c. ; cette quantité de culture représentait 3 D.M. pour le cobaye. Au cours de ces expériences successives nous avons réservé une dizaine de centimètres cubes de chacune des cultures pour déterminer après centrifugation leur nocivité pour la souris et leur activité hémolytique vis-à-vis de 0,1 c. c. d'une suspension à 5 p. 100 d'hématies lavées de mouton. Les résultats de ces dosages figurent dans le tableau II.

TABLEAU II. — Pouvoir pathogène pour le cobaye de différentes cultures de *B. perfringens*. Toxicité pour la souris et activité hémolytique des cultures centrifugées.

EXPÉRIENCE	CULTURE de la souche	VOLUME DE CULTURE injecté à chaque cobaye (nombre de D.M. contenues dans ce volume)	TOXICITÉ de la culture centrifugée Nombre de D.M. par centimètre cube (titrages sur souris)	ACTIVITÉ hémolytique de la culture centrifugée Nombre de D. H. par centimètre cube (hématies de mouton)
1	SS	0,05 c.c. (2 D.M.).	40 à 50	1.000
2	SS	0,05 c.c. (4 D.M.).	50	2.500
3	SS	0,05 c.c. (4 D.M.).	50	6.600
4	SS	0,015 c.c. (1 D.M. 1/2).	50 à 60	1.000
5	Lechien.	0,15 c.c. (3 D.M.).	15 à 20	5.000
6	Lechien.	0,15 c.c. (3 D.M.).	15 à 20	1.000

Aucune lésion macroscopique n'apparaît chez les animaux qui reçoivent en injection intramusculaire la culture additionnée de fortes doses de sérum ; les mélanges de culture et de faibles quantités de sérum provoquent un léger œdème au lieu d'inoculation. En général cet œdème se résorbe progressivement pendant les jours qui suivent l'injection ; quelquefois une perforation se produit qui se cicatrise par la suite. La culture traitée par des doses trop faibles de sérum détermine les symptômes classiques de la gangrène déclenchée par les souches toxigènes de *B. perfringens* : crépitation gazeuse, myolyse des muscles inoculés, altération des muscles abdominaux, œdème gélatineux rosé partant de la face interne de la cuisse infectée et envahissant le tissu cellulaire sous-cutané le long de l'abdomen et du thorax ; les animaux succombent en trente à soixante heures. Les témoins qui reçoivent la même quantité de culture mais pas de sérum meurent généralement en moins de dix-huit heures, quelquefois en vingt et vingt-

quatre heures. En notant seize et vingt jours après l'inoculation le nombre d'animaux restant en bon état, nous avons fait les observations suivantes au cours de 6 expériences réalisées sur 638 cobayes (17) :

a) Les sérums contenant 15 à 20 ou 20 unités anti- ζ et 500 à 800 unités anti- α neutralisent à la dose de 1/100 de centimètre cube 2 D.M. de culture et même 3 et 4 D.M. : tous les cobayes ayant reçu ces quantités de culture additionnées de la dose de sérum indiquée survivent. Aux doses de 1/200 et 1/400 de centimètre cube, ces immunsérums protègent au moins la moitié des cobayes contre 2 à 4 D.M. de culture. Ils apparaissent donc aussi actifs, sinon plus, que le sérum ayant permis à Weinberg et Seguin d'obtenir de bons résultats en clinique. Nous en avons titré de beaucoup plus efficaces encore : ceux qui renfermaient 30-40 unités anti- ζ et 600 à 750 unités anti- α protégeaient à la dose de 1/200 de centimètre cube tous les cobayes contre les quantités de culture précédemment indiquées et la majorité des cobayes aux doses de 1/400, 1/600 et 1/800 de centimètre cube. Un sérum titrant 150 unités anti- ζ et 2.100 unités anti- α a protégé tous les cobayes aux doses de 1/1.000, 1/1.500 et 1/2.000 de centimètre cube contre 3 D.M. de culture (souche Lechien), et le même sérum contenant 150 unités anti- ζ et 4.000 unités anti- α a inhibé 4 D.M. de culture *perfringens* (souche SS) aux doses de 1/2.000 et 1/2.500. Ces deux derniers sérums, très riches en antitoxines ζ et α , possèdent donc des propriétés anti-infectieuses intenses.

b) En utilisant des sérums ayant sensiblement le même titre anti- ζ , 30 à 40 u. i., et des titres anti- α compris entre 600 et 1.200 u. i., nous n'avons pas observé d'une manière constante que le plus riche en anti-hémolysine avait une efficacité plus marquée que le moins anti-hémolytique ; en effet, dans une expérience réalisée avec 1 D.M. 1/2 de culture *perfringens*, souche SS, le sérum 415 contenant 1.200 u. i. anti- α s'est montré légèrement plus actif que le sérum 211 (dont le titre anti- α est de 750 u. i.) ; mais son activité n'a pas été supérieure à celle du sérum 45.039 qui titre seulement 600 unités anti- α ; dans un essai réalisé vis-à-vis de 3 D.M. de culture *perfringens*, souche Lechien, le sérum 415 n'a pas été plus actif que le sérum 211 (expérience VI). De ces résultats, il ressort que des quantités d'anti-hémolysine supérieures à 600 u. i. dans des sérums contenant déjà 30 à 40 unités anti- ζ n'augmentent pas la valeur du sérum d'une manière significative.

(17) L'ensemble des titrages nous a montré fréquemment que la détermination sur cobayes de l'activité anti-infectieuse des sérums est réalisée avec moins de précision que l'évaluation du titre anti- ζ des mêmes sérums par la méthode des injections intraveineuses à la souris.

c) En comparant les sérums précédents à des sérums contenant 60 à 80 unités anti- ζ et seulement 20 à 100 unités anti- α , nous avons noté des résultats irréguliers : dans 3 expériences le sérum 135 à peine anti-hémolytique a été aussi actif que les sérums 211 et 415 riches en anti-hémolysine (expérience IV vis-à-vis de 1 D.M. 1/2 de culture SS et expériences V et VI vis-à-vis de 3 D.M. de culture Lechien) ; dans 2 expériences il a été moins actif que ces deux sérums (expériences II et III vis-à-vis de 4 D.M. de cultures préparées avec la souche SS).

Voici quelques exemples : dans l'expérience VI, les 4 cobayes ayant reçu 3 D.M. de culture Lechien + 1/400 de centimètre cube de sérum 135 ou de sérum 211 survivent ; le sérum peu anti-hémolytique 37 se montre presque aussi efficace. Dans l'expérience IV les sérums 135 et 37 manifestent la même activité que le sérum 45.039 (d'après le tableau I, le sérum 45.039 titre 600 unités anti- α et 40 unités anti- ζ ; le sérum 37 : 50 à 100 unités anti- α et 80 unités anti- ζ). Mais dans les expériences II et III, réalisées vis-à-vis de 4 D.M. de culture SS, le sérum 135 aux doses de 1/400 et 1/800 de centimètre cube protège seulement 1 cobaye sur 7 alors que le sérum 415 en protège 4 sur 7 à la dose de 1/400 et 5 sur 7 à la dose de 1/800 ; dans le tableau III

TABEAU III. — Sérum anti-*perfringens*. Pouvoir anti-infectieux vis-à-vis de 4 doses mortelles de *B. perfringens* (souche SS).

SÉRUMS	VOLUME DE SÉRUM INJECTÉ A CHAQUE COBAYE (en centimètre cube)									
	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.100	1/1.200	1/1.500	1/2.000	1/2.500
anti- <i>perfringens</i>	Nombre de survivants									
1	4 sur 4	6 sur 7	6 sur 7	0 sur 4	0 sur 4					
5	3 sur 3	2 sur 3	4 sur 7	4 sur 7	5 sur 7	2 sur 4	1 sur 4			
5	2 sur 3	2 sur 3	1 sur 7	2 sur 7	1 sur 7					
a				2 sur 3	3 sur 3	5 sur 7	3 sur 4	6 sur 7	4 sur 7	3 sur 4

nous indiquons ces résultats et quelques autres observés au cours de cette expérience. Rappelons que le sérum 135 contient plus d'antitoxines ζ et η , mais moins d'antitoxine α que le sérum 415, de sorte que la faible activité que ce sérum peu anti-hémolytique manifeste au cours de ces deux expériences peut être rapportée à la déficience en anti-hémolysine.

Des résultats obtenus au cours des expériences effectuées en présence de 1 à 3 D.M. de culture de *B. perfringens* et de sérum contenant soit 60 à 80 unités anti- ζ et 20 à 100 unités anti- α , soit 30-40 unités anti- ζ et 600 unités anti- α , nous déduisons que l'anti-

hémolysine *perfringens* des sérums titrant plus de 60 unités anti- ζ joue un rôle effacé dans les conditions expérimentales que nous avons indiquées ; mais des titrages réalisés vis-à-vis d'une dose d'épreuve plus grande de culture, et au cours desquels les sérums renfermant moins de 100 unités d'antitoxine α se sont montrés moins efficaces que les sérums possédant 600 unités de cette antitoxine, nous concluons qu'il est nécessaire d'utiliser dans les cas graves des sérums anti-*perfringens* contenant plus de 100 unités anti- α à côté des antitoxines ζ et η en quantité suffisante.

NOUVELLE RÉACTION DE FLOCCULATION DE LA LÈPRE (1)

par V. CHORINE.

7° Résultats pratiques de la réaction.

Dans ce chapitre, nous allons donner les résultats de nos essais faits à l'Institut Central de la Lèpre de l'A. O. F., à Bamako. A ce moment, nous avons travaillé avec une seule dose de sérum de 0,5 c. c. additionnée de 0,5 c. c. de suspension d'antigène.

A. — Sérums des lépreux.

NUMÉROS		TUBE de réaction	TUBE témoin	DIFFÉRENCE
1 . . .	Fa... Coul... Lèpre lépromateuse, peu évolutive.	216	157	59
2 . . .	Oua... Cis... Forme lépromateuse, malade couvert de lépromes.	205	154	51
3 . . .	Z... Diar... Forme lépromateuse peu active.	212	155	57
4 . . .	Am... Dia... Lèpre tuberculoïde peu active.	217	155	62
5 . . .	Mam... Troa... Lèpre lépromateuse peu active.	219	155	64
6 . . .	Bal... Cis... Lèpre lépromateuse flo- ride, lépromes sur la figure et le cou.	210	156	54
7 . . .	Den... Diar... Lèpre lépromateuse peu active.	192	156	36
8 . . .	Kan... Troa... Lèpre au début, quel- ques macules figure et bras.	410	159	251
9 . . .	Dem... Doum... Lèpre lépromateuse, floride, lépromes à la figure et au cou.	380	158	222
10 . . .	Z... Coul... Lèpre lépromateuse peu active.	193	160	33
11 . . .	Lu... Bag... Lèpre lépromateuse peu active, améliorée, malade couverte de cicatrices (traitement).	188	155	33
12 . . .	Kom... Kei... Lèpre cutanée peu active.	215	159	56
13 . . .	Y... Sam... Lèpre lépromateuse assez active, figure très touchée.	247	156	91
14 . . .	Mous... Doum... Lèpre tuberculoïde peu active.	190	155	35

(1) Voir ces *Annales*, 1944, 70, 257.

NUMÉROS		TUBE de réaction	TUBE témoin	DIFFÉRENCE
15 . . .	Ter... Cam... Lèpre nerveuse.	183	153	30
16 . . .	Mak... Doum... Lèpre tuberculoïde peu active.	228	153	75
17 . . .	Mam... Demb... Lèpre tuberculoïde peu active.	187	150	37
18 . . .	Ham... Sov... Lèpre tuberculoïde peu active.	255	157	98
19 . . .	Keb... Doum... Lèpre tuberculoïde assez active.	280	154	126
20 . . .	Bak... Coul... Lèpre tuberculoïde en activité.	210	153	57
21 . . .	Mous... Soum... Lèpre tuberculoïde peu active.	206	160	46
22 . . .	Boud... Dial... Lèpre lépromateuse en évolution, lésions surtout sur la figure.	187	153	34
23 . . .	Geor... Dial... Lèpre lépromateuse active, lépromes surtout sur la figure.	222	157	65
24 . . .	Tiec... Diar... Lèpre lépromateuse peu active.	205	163	42
25 . . .	Mam... Demb... Lèpre lépromateuse pas très active.	187	152	35
26 . . .	Koud... Soum... Infiltration du front, du menton et des lèvres.	454	166	288
27 . . .	Bint... Troar... Macules sur la figure, rien sur le corps.	280	71	209
28 . . .	Hao... Cam... Peu de chose, quelques macules à peine visibles sur la figure, rien sur le corps.	217	153	64
29 . . .	N'Touk... Diar... Forme léproma- teuse peu active.	194	165	29
30 . . .	Mak... Sam... Lèpre tuberculoïde, quelques taches hypochromiques non infiltrées sur le corps.	194	154	40
31 . . .	Bank... Kon... Vieux lépreux cutané.	284	157	127
32 . . .	Lal... Doumb... Nez camus, figure infiltrée, taches hypochromiques sur le corps, état depuis long- temps stationnaire.	210	157	53
33 . . .	Bob... Keit... Vieux lépreux lépro- mateux.	209	156	53
34 . . .	Des... Diar... Lépreux avancé, forme cutanée, gomme du nez.	431	159	272
35 . . .	Set... Troar... Vieille lépromateuse, la maladie paraît peu active.	374	157	217
36 . . .	Soul... Troar... Vieux lépromateux très atteint, peau infiltrée sur une grande surface.	376	161	215
37 . . .	Fous... Troar... Peu atteint, bon état général. Quelques macules, dont certaines infiltrées, sur le corps et les bras.	216	157	59
38 . . .	Lais... Som... Vieux lépromateux, gomme du nez, peau infiltrée sur une grande surface.	212	160	52
39 . . .	Neg... Troar... Peu atteint, quelques macules hypochromiques peu nom- breuses sur le corps.	210	161	49

NUMÉROS		TUBE de réaction	TUBE témoin	DIFFÉRENCE
40 . . .	Mak... Bay... Vieux lépromateux, gomme du nez, infiltration diffuse, mutilations des doigts et des orteils.	471	157	314
41 . . .	Mad... Diab... Forme nodulaire, petits nodules très nombreux sur le dos et sur le corps.	197	156	31
42 . . .	Sit... Doumb... Taches hypochromiques sur le corps, figure légèrement boursoufflée avec quelques nodules.	197	160	37
43 . . .	Lod... Troar... Figure boursoufflée très légèrement, quelques macules très peu marquées sur le corps.	210	155	55
44 . . .	Gab... -an... Taches hypochromiques sur le corps, figure un peu boursoufflée.	201	156	45
45 . . .	Ous... Guind... Vieux lépromateux.	191	161	30
46 . . .	Tied... Som... Quelques macules sur le corps, non infiltrées pour la plupart, figure boursoufflée.	245	157	88
47 . . .	Bal... Keit... Figure infiltrée, rien sur le corps.	227	159	68
48 . . .	Bac... Troar... Vieux lépromateux, lèpre floride, lésions surtout sur le thorax et la figure.	215	162	53
49 . . .	Diom... Koul... Macules achromiques sur le corps, figure légèrement infiltrée, maladie peu active.	197	162	35
50 . . .	Fat... Sak... Vieille lépromateuse assez floride.	201	164	37
51 . . .	Dior... Doumb... Lèpre nerveuse, atrophies musculaires importantes et généralisées.	290	157	133
52 . . .	Kab... Cam... Lèpre tuberculoïde peu active, taches hypochromiques sur le corps.	183	159	24
53 . . .	Pa... Traor... Lèpre lépromateuse, nombreux nodules sur le corps, début de kératite.	220	157	63
54 . . .	Bir... Dram... Quelques taches infiltrées sur le corps et sur la figure.	180	158	22
55 . . .	Dao... Diak... Macules hypochromiques sur le corps. Figure boursoufflée.	232	152	80
56 . . .	Sir... Diab... Vieux lépreux. Mutilations des mains, atrophies musculaires.	205	156	49
57 . . .	An... Diav... Presque rien, quelques macules à peine visibles (tuberculoïde).	204	153	51
58 . . .	Nak... Keit... Taches à peine hypochromiques sur la figure, rien sur le corps.	189	156	33
59 . . .	K... Keit... Taches vitiligineuses sur tout le corps.	202	154	48
60 . . .	Dam... Sak... Figure légèrement boursoufflée, quelques macules à peine visibles sur le corps.	290	154	136

NUMÉROS		TUBE de réaction	TUBE témoin	DIFFÉRENCE
61 . . .	Sek... Tour... Peu de chose, quelques taches hypochromiques sur la figure.	193	170	23
62 . . .	Anz... Baht... Vieux lépromateux assez atteint.	330	166	164
63 . . .	Sit... Traor... Quelques macules à peine visibles sur les bras. Très bon état général.	291	156	135
64 . . .	Ang... Zav... Fille d'un lépreux, habite avec son père malade. Pas de signes apparents de la lèpre.	180	159	21
65 . . .	Kour... Doumb... N'a pas de signes apparents de la lèpre, les taches sont disparues.	181	156	25
66 . . .	Gag... Niamb... Très peu malade, pas de taches, figure légèrement boursoufflée.	203	153	50
67 . . .	Tié... Kan... Peau infiltrée, figure boursoufflée, malade assez atteint.	404	157	247
68 . . .	Sid... Maig... Figure fortement boursoufflée, gomme du nez, quelques macules sur le corps.	178	156	22
69 . . .	Mam'... Tor... Réaction lépreuse.	210	160	50
70 . . .	Ko... Coul... Cachexie terminale chez un vieux lépreux, le malade est mourant.	179	156	23
71 . . .	Bab... Cal... Réaction lépreuse.	286	158	128
72 . . .	Man... Kont... Presque rien, quelques macules à peine visibles.	405	161	244
73 . . .	Ray... Keit... Petits nodules sur la figure, taches infiltrées sur le corps.	216	180	36
74 . . .	Dah... Can... Vieux lépreux, paraît non évolutif, griffes cubitales des deux mains, gomme du nez.	266	162	104
75 . . .	Band... Co... Vieux lépreux très atteint, nodules sur la figure et nombreuses plaques infiltrées sur le corps.	454	166	288
76 . . .	Kour... Diab... Quelques taches légèrement achromiques sur le corps.	370	175	195
77 . . .	Bok... Dem... Nombreuses taches bronzées sur la figure et sur le corps.	191	164	27
78 . . .	Mot... Dia... Vieux lépreux, nodules sur la face surtout et aux avant-bras.	254	170	84
79 . . .	Anast... Bag... Lépromateux, paraît peu atteint.	489	219	270
80 . . .	Mam... Keit... Vieux lépromateux très atteint.	406	160	246
81 . . .	Kan... Oul... Taches hypochromiques sur les bras et sur le dos. Algies violentes aux avant-bras, malade très améliorée.	215	156	59
82 . . .	Mam... Fomb... Vieux lépromateux; paraît stabilisé	187	154	33
83 . . .	Fai... Troar... Vieux lépromateux, pas en activité, paraît stabilisé, pas de sourcils, figure tuméfiée.	183	155	28

NUMÉROS		TUBE de réaction	TUBE témoin	DIFFÉRENCE
84 . . .	Paind... Soum... Quelques petits nodules sur le corps, peu atteint.	183	160	25
85 . . .	Yoy... Komet... Nodules sur les bras et sur le corps, figure tuméfiée.	323	170	153
86 . . .	Mak... Kon... Vieux tuberculoïde, kératite, mutilations des doigts des deux mains, taches hypochromiques sur le corps.	190	157	33
87 . . .	Doumb... Bath.. Gomme du nez, taches circonécées, quelques-unes infiltrées, quelques-unes sur le corps.	250	158	92
88 . . .	Koun... Touc... Vieille lépreuse, peau infiltrée aux bras et à la figure, taches hypochromiques sur le dos.	186	161	25
89 . . .	Fant... Couverte de taches hypochromiques.	185	157	28
90 . . .	Mar... Diak... Vieux lépreux, figure très atteinte, infiltrée et couverte de nodules, pas de sourcils, nodules sur la peau du dos.	250	159	91
91 . . .	Pasc... Lèpre tuberculoïde, nombreuses et larges taches sur le corps.	186	161	25
92 . . .	Jean... Dar... Taches hypochromiques sur la figure, malade assez atteinte.	184	161	23
93 . . .	Samb... Cam... Figure infiltrée, taches hypochromiques sur la figure, malade assez atteint.	200	159	41
94 . . .	Ten... Diar... Peu atteint, lèpre nerveuse, griffe cubitale, rien sur la peau.	262	161	101
95 . . .	Oua... Sab... Figure infiltrée, taches hypochromiques sur le corps, pas de sourcils, ni de cils.	216	162	54
96 . . .	Phyl... Keit... Grandes taches hypochromiques sur le dos, les cuisses, la figure (Tuberculoïde).	189	157	32
97 . . .	Phyl... Keit... Grandes taches hypochromiques à peine visibles sur le cou et sur la figure.	187	164	23
98 . . .	Mar... Sam... Taches hypochromiques sur le corps et sur la figure.	204	161	44
99 . . .	Mam... Dia... Vieux lépromateux avancé, nodules sur la figure et sur le corps.	203	163	40
100 . .	Sol... Cam... Vieux nerveux, mutilations des doigts des deux mains, mal perforant plantaire.	190	160	30
101 . .	Djib... Sam... Quinze ans, lépreux avancé très atteint (lépromateux).	232	161	71
102 . .	Diam... Troar. . Quelques petites taches hypochromiques sur la figure, très bon état général.	189	160	29
103 . .	Mon... Diak... Lèpre tuberculoïde au début, non traitée, quelques taches, 5 ou 6, larges comme une pièce de 2 francs sur les bras et les cuisses.	189	161	28

NUMÉROS		TUBE de réaction	TUBE témoin	DIFFÉRENCE
104 . . .	Kot... Bag... Pas de signes apparents de la lèpre.	489	460	29
105 . . .	Mous... Diak... Lèpre nerveuse, pas de taches sur le corps, mutilations des doigts et des orteils.	487	457	30
106 . . .	Baka... Gru... Lèpre nerveuse, nécrose des orteils, mutilations des doigts, pas de taches sur le corps et bon état général.	485	454	31
107 . . .	Moun... Simb... Lèpre lépromateuse avancée, la peau est infiltrée sur tout le corps.	335	43	322
108 . . .	Bam... Nima... Lèpre tuberculoïde, paraît assez active, mutilations des doigts et des orteils.	460	451	309
109 . . .	Oum... Sil... Forme cutanée, paraît peu active, gomme du nez.	364	454	240
110 . . .	Mam... Soumb... Vieux nerveux, mutilations graves des doigts et des orteils.	220	457	63
111 . . .	Mar... Des... Nodules suppurés au genou.	230	456	74
112 . . .	Sag... Dji... Vieux lépreux, figure très touchée, peu de chose sur le corps.	496	454	42
113 . . .	Kand... Bat... Vieux lépreux tuberculoïde, figure assez atteinte, nombreuses taches hypochromiques.	224	457	67
114 . . .	Fant... Diak... Taches hypochromiques sur le corps, légères griffes cubitales.	218	457	61
115 . . .	Mous... Diov... Nombreuses taches hypochromiques sur le corps.	492	454	38
116 . . .	Bak... Sak... Peu atteint, quelques taches hypochromiques à peine visibles.	229	452	77
117 . . .	Lam... Kon... Vieille tuberculoïde; lèpre paraît assez active, taches classiques avec bordures surélevées.	489	452	37
118 . . .	Youg... Niam... Enfant de dix à douze ans très peu atteint.	490	453	37
119 . . .	Hav... Cam... Lèpre nerveuse, mutilations graves des deux mains, presque rien sur le corps.	206	453	53
120 . . .	Kar... Cam... Peau infiltrée presque sur tout le corps, figure boursoufflée.	208	454	54
121 . . .	Bas... Diak... Assez nombreuses taches hypochromiques sur le corps.	495	453	42
122 . . .	Fat... Troar... Vieille lépreuse avancée, la peau est très infiltrée.	349	456	193
123 . . .	Diod... Kant... Vieille tuberculoïde avancée.	412	457	255
124 . . .	Dot... Diar... Taches hypochromiques, mutilations des doigts.	487	454	33
125 . . .	Tor... Diar... Vieux lépromateux.	211	453	58
126 . . .	Brah... Coull... Lèpre nerveuse, atrophies musculaires importantes et généralisées.	227	453	74
127 . . .	Brah... Diar... Figure assez atteinte, sur le corps il reste peu de chose.	485	453	32

NUMÉROS		TUBE de réaction	TUBE témoïn	DIFFÉRENCE
128 . . .	Mam... Kab... Figure très infiltrée, taches hypochromiques, dont quelques-unes infiltrées.	193	154	39
129 . . .	Diam... Dos... Figure légèrement infiltrée, mutilations des doigts, taches achromiques et infiltrées sur le corps.	184	156	28
130 . . .	Mat... Dio... Lèpre nerveuse, figure légèrement infiltrée, mutilations des doigts, taches achromiques et infiltrées sur le corps.	187	155	32
131 . . .	Kal... Dial... Quelques taches achromiques sur le corps.	193	160	33
132 . . .	Sib... Troar... Vieux lépromateux.	187	155	32
133 . . .	Mous... Cis... Très peu atteint	195	157	38
134 . . .	Mam... Krit... 2 à 3 petites taches sur la figure, non infiltrées, à peine visibles.	188	160	28
135 . . .	Bay... Sil... Quelques taches à peine visibles sur la figure.	187	155	32
136 . . .	Mod... Sang... Mutilations des doigts, taches achromiques sur le corps.	191	156	35
137 . . .	Maus... Troar... Figure infiltrée, très peu de chose sur le corps.	203	157	46
138 . . .	Kon... Bag... Taches hypochromiques et infiltrées sur le corps.	220	158	62
139 . . .	Koun... Cam... Vieille lépreuse, couverte de taches hypochromiques, figure infiltrée, gomme du nez	221	168	53
140 . . .	Bol... Diak... Lèpre nerveuse secondaire, mutilations des doigts, peu ou presque pas de manifestations cutanées.	208	160	48
141 . . .	Mous... Doumb... Très peu atteint, on ne voit pas de signes apparents de la lèpre.	192	156	36
142 . . .	Diar... Doumb... Peu atteint.	193	160	33
143 . . .	Dah... Cam... Vieux nerveux, gomme du nez, mutilations des doigts et des orteils; taches hypochromiques.	189	159	30
144 . . .	Sek... Cam... Vieux lépreux, légères mutilations, atrophies musculaires importantes des membres et du corps.	185	155	30
145 . . .	Dang... Coul... Figure très infiltrée, taches hypochromiques sur le corps.	186	152	34
146 . . .	Fant... Sil... Bon état général, quelques taches hypochromiques discrètes sur l'avant-bras.	200	157	43
147 . . .	Sob... Diak... Nombreuses taches assez larges et hypochromiques sur le corps.	193	156	37
148 . . .	Benk... Sang... Vieux lépreux, peau infiltrée sur le dos et sur la poitrine, figure infiltrée.	192	161	31
149 . . .	Soumb... Diak... Taches hypochromiques aux avant-bras, malade peu atteint.	184	157	27
150 . . .	Mag... Gand... Vieille lépreuse tuberculoïde; relativement peu atteinte,	195	155	40

NUMÉROS		TUBE de réaction	TUBE témoin	DIFFÉRENCE
151 . . .	Ibr... Dieb... Très nombreuses macules hypochromiques non infiltrées sur le corps, malade relativement peu touché.	200	154	46
152 . . .	Mam... Cam... Griffes cubitales, taches peu nombreuses sur le corps, malade peu atteint.	190	158	32
153 . . .	Far... Doumb... Vieille tuberculoïde, taches, mutilations des doigts.	201	158	43
154 . . .	Bint... Troar... Taches infiltrées sur la figure au niveau des tatouages, pas de lésions sur le corps; nouvelle malade non traitée.	289	171	118
155 . . .	Ouar... Doumb... Lépromateux, nodules relativement peu nombreux.	241	147	94
156 . . .	Fat... Keit... Lèpre tuberculoïde au début, enfant de dix à douze ans, non traité.	257	154	103
157 . . .	Sit... Keit... Plus rien d'apparent, enfant de huit ans (tuberculoïde).	205	156	49
158 . . .	Nam... Keit... Lèpre tuberculoïde au début; non traité.	248	159	89
159 . . .	Mod... Gam... Très peu atteint, une petite tache au niveau de l'aisselle gauche.	195	155	40
160 . . .	Mr... Sis... Griffes cubitales des deux mains, mutilations des orteils, taches tuberculoides sur le corps, dont un certain nombre sont en voie de disparition.	204	161	43
161 . . .	Diad... Toug... Taches hypochromiques discrètes peu visibles sur le corps, rien sur la figure, atrophie des interosseux.	211	161	50
162 . . .	Mous... Sang... Lèpre nerveuse, mutilations très importantes des deux mains et des orteils, atrophies musculaires généralisées, pas de taches sur le corps et la figure.	211	161	50
163 . . .	Magl... Kont... Quelques taches hypochromiques non infiltrées sur le corps, sur les cuisses en particulier, ainsi que sur la figure et aux épaules. Atrophies des interosseux.	221	161	60
164 . . .	Mam... Kir... Lèpre tuberculoïde, larges taches au dos, aux fesses, aux cuisses, mutilations des doigts, mal perforant.	195	161	34
165 . . .	Bour... Onat... Très peu atteint, taches non en activité sur la face interne des deux cuisses, deux petites taches sur la poitrine, une autre au dos.	187	161	26
166 . . .	Niam... Kan... Vieille tuberculoïde, nombreuses taches sur le corps, dont certaines paraissent en activité, peu de mutilations.	212	163	49
167 . . .	Bag... Doumb... Lèpre tuberculoïde stabilisée, les taches sont affaissées, mutilations légères des petits doigts des deux mains.	195	163	32

NUMÉROS		TUBE de réaction	TUBE témoin	DIFFÉRENCE
168 . . .	Dj... Diar... N'a plus de signes appa- rents de la lèpre.	195	159	36
169 . . .	Mous... Doumb... Taches achromiques non infiltrées sur le corps, mutila- tions des doigts de la main droite, figure légèrement boursoufflée.	259	160	99
170 . . .	Saus... Coul... Taches achromiques non infiltrées sur la figure et le corps, peu atteint.	193	161	32
171 . . .	Na... Sak... Enfant de quatre ans, lèpre tuberculoïde au début, une petite tache aux fesses, l'autre à l'avant-bras droit, ces taches sont larges comme une pièce de 50 cen- times.	192	152	40
172 . . .	Niag... Troar... Vieille tuberculoïde; plus de doigts, taches sur le corps.	198	157	41
173 . . .	Brah... Gniind... Vieux lépreux, cou- vert de taches achromiques. Figure très infiltrée.	202	159	43
174 . . .	Nam... Coul... Enfant de dix ans, quelques taches très discrètes sur la figure, rien sur le corps.	212	164	48
175 . . .	Pe... Coul... Malade amélioré, il reste peu de chose.	223	160	63
176 . . .	Seg... Sis... Malade très amélioré. Les taches sont à peine visibles.	189	158	31
177 . . .	Bint... Traor... Lèpre tuberculoïde; plusieurs taches sur le corps, dont certaines avec une bordure sur- élevée.	208	159	49
178 . . .	Maus... Kant... Taches discrètes à peine visibles et non achromiques.	416	165	251
179 . . .	Ibr... Demb... Quelques taches hyper- chromiques sur le corps.	184	154	30
180 . . .	Mam... Diak... Taches hypochromiques non infiltrées sur les cuisses et sur la figure; rien sur le corps.	194	158	36
181 . . .	Hon... Diarc... Vieux lépreux, taches infiltrées et hypochromiques sur le corps.	192	156	36
182 . . .	Je... Bapt... Vieux lépreux, mutila- tions des doigts et des orteils, taches hypochromiques sur le corps, figure infiltrée.	204	158	46
183 . . .	Kar... Coul... Vieux tuberculoïde, taches typiques sur le corps, mutila- tions des doigts et des orteils.	197	159	38
184 . . .	Fan... Troar... Vieux lépreux cutané. Peau infiltrée sur une grande surface.	210	156	54
185 . . .	Our... Douc... Taches légèrement achro- miques sur la figure, peu atteint.	205	156	49
186 . . .	Min... Doumb... Mutilations des doigts, taches achromiques sur le corps.	200	159	41
187 . . .	Koumb... Dec... Vieille lépreuse, figure infiltrée, taches achromiques sur le corps.	220	160	60
188 . . .	Soul... Dial... Aveugle kératite, lé- preux avancé, taches infiltrées sur la figure et sur tout le corps.	196	156	40

NUMÉROS		TUBE de réaction	TUBE témoin	DIFFÉRENCE
189 . . .	Mous... Sam... Lèpre nerveuse, atrophies musculaires importantes, mutilations des orteils.	236	164	72
190 . . .	Doum... Sak... Taches hypochromiques sur le corps, atrophies musculaires des deux mains, maladie peu active.	190	158	32
191 . . .	Fat... Sak... Début de la maladie, 6 taches infiltrées sur le corps, larges comme une pièce de 1 franc, non traité.	390	157	233
192 . . .	Far... Doumb... Lèpre tuberculoïde en activité avec de nombreuses taches surélevées.	215	158	57
193 . . .	Aug... Noir... Lèpre nerveuse, griffes de tous les doigts, quelques rares taches infiltrées sur le corps.	212	158	54
194 . . .	Moum... Simb... Réaction lépreuse, assez forte (température 38°5-40°5), nodules aux avant-bras et aux jambes; douleurs osseuses et articulaires.	474	164	310
195 . . .	Bak... Keit... Réaction lépreuse, grave chez un lépreux atteint d'une forme tuberculoïde majeure.	360	166	194
196 . . .	Doumb... Bath... Lépromateux évolutif.	253	162	91
197 . . .	Lay... Bag... Lèpre lépromateuse évolutive.	290	156	134
198 . . .	Oua... Sar... Peu atteint.	220	163	57
199 . . .	Bint... Dial... Rien sur le corps, figure infiltrée, état général moyen.	193	156	37
200 . . .	Mon... Diak... Macules hypochromiques sur le corps, figure légèrement infiltrée, maladie peu active.	197	162	35

B. — Sérums non lépreux.

NUMÉROS	TUBE de réaction	TUBE témoin	DIFFÉRENCE
1	178	166	12
2	181	161	20
3	181	165	16
4	188	165	23
5	188	158	30
6	182	159	23
7	187	162	25
8	195	167	28
9	187	161	26
10	184	160	24
11	185	157	28
12	187	158	29
13	184	158	26
14	182	157	25

RÉACTION DE FLOCCULATION DE LA LÈPRE

351

NUMÉROS	TUBE de réaction	TUBE témoin	DIFFÉRENCE
15	187	157	30
16	188	159	29
17	188	167	21
18	186	162	24
19	188	167	21
20	186	163	23
21	187	163	24
22	202	165	37
23	194	172	22
24	183	161	22
25	181	153	28
26	187	158	29
27	186	158	28
28	183	154	29
29	186	158	28
30	182	160	22
31	180	159	21
32	180	154	26
33	177	155	22
34	179	151	28
35	185	154	31
36	187	155	32
37	181	155	26
38	184	159	25
39	184	166	18
40	182	156	26
41	190	162	28
42	186	157	29
43	170	156	14
44	185	157	28
45	188	159	29
46	182	156	26
47	181	156	25
48	184	156	28
49	184	153	29
50	186	157	29
51	184	157	27
52	183	155	28
53	185	156	29
54	206	167	39
55	181	155	26
56	182	154	28
57	174	158	16
58	180	158	22
59	184	156	28
60	181	155	26
61	177	155	22
62	177	157	20
63	172	157	15
64	184	156	28
65	169	157	12
66	192	160	32
67	171	156	15
68	181	157	24
69	182	158	24

NUMÉROS	TUBE de réaction	TUBE témoin	DIFFÉRENCE
70	177	156	21
71	180	161	19
72	176	157	19
73	181	158	23
74	182	158	24
75	183	157	26
76	174	156	18
77	180	160	20
78	174	158	16
79	186	157	29
80	189	161	28
81	185	158	27
82	181	157	24
83	186	160	26
84	185	157	28
85	182	158	24
86	179	159	20
87	184	160	24
88	183	155	28
89	178	156	22
90	177	157	20
91	183	159	24
92	178	153	25
93	184	156	28
94	178	160	18
95	181	162	19
96	180	154	26
97	181	157	24
98	183	158	25
99	185	157	28
100	183	153	30

8° *Cette floculation est indépendante
des autres réactions sérologiques.*

Notre réaction paraît être indépendante des autres réactions de floculation ou de déviation du complément, telles que la réaction de Vernes au péréthynol, celle à la résorcine, la réaction de Henry et la réaction de Bordet-Wassermann. Nous avons pratiqué simultanément plusieurs de ces réactions sur un même sérum lépreux ou normal et nous donnons ici quelques exemples qui illustrent bien ce fait (tableau VIII).

Discussion des résultats.

L'absence d'une réaction sérologique de la lèpre gêne considérablement le travail des médecins. La réaction que nous proposons pourra-t-elle combler ce vide ? Nous ne le saurons qu'en continuant l'étude systématique de sa valeur clinique. L'antigène

TABLEAU VIII.

RÉACTION de la lèpre	RÉACTION au péréthynol	RÉACTION de Henry technique Chorine	RÉACTION à la résorcine	RÉACTION de Bordet-Wassermann
57	59		20	
62	18		18	
64	10		50	
54	30	15	61	
36	13		12	
222	101		44	+++
56	79		35	+++
91		26	75	
30		0	30	
37	0	39		—
75	0	40		—
98	28	2		
126	0	0		—
288	0	69	15	—
109	0		67	—
29	20		12	
272	54			+++
22		10		—
32		62		+++
21		15		

utilisé est encore peu étudié et nous ne prétendons pas donner ici un tableau définitif de cette réaction.

Il est probable que la flocculation avec l'extrait alcoolique des tissus formolés est due à un mécanisme voisin de celui qui régit la réaction de Rubino.

Nous avons indiqué en quelques mots l'état de chaque malade. Il est probable que dans la lèpre, comme dans la plupart des maladies, l'importance des *lésions apparentes* ne correspond pas toujours à la gravité réelle de la maladie. Les lésions cutanées, nerveuses et osseuses, quand elles sont déjà installées depuis un certain temps, ne nous fournissent que bien peu de renseignements sur l'état réel du malade, sur l'atteinte des organes internes et sur la rapidité de l'évolution de l'infection, faits pourtant d'une importance primordiale pour juger la valeur d'une réaction sérologique.

Revenons maintenant à l'examen des résultats que nous avons obtenus avec les sérums non lépreux et les sérums lépreux. La différence est très nette.

A partir de quel chiffre doit-on considérer la réaction comme positive ? Pour le moment, cette limite est fixée par nous à 30. La raison qui nous a guidé pour adopter ce chiffre est la suivante : nous avons vu que la densité optique de l'émulsion utilisée est de 30-32. Les résultats qui ne dépassent pas ce chiffre sont donc dus à la suspension et nullement à l'opacification du mélange

sérum + indicateur. Les chiffres au-dessus de 30 correspondraient à la floculation du mélange. Les sérums dont la réaction varie de 30 à 35 seront considérés comme douteux. Mais ces chiffres peuvent subir encore des modifications ultérieures.

Parmi les sérums non lépreux, 6 sur 100 ont présenté une floculation entre 30-35, et 2 entre 35-40. Ces 2 derniers sérums ont été prélevés sur des malades indigènes que malheureusement nous n'avons pu retrouver.

Quand on examine les résultats obtenus avec les 200 sérums lépreux, on constate que 21 sérums sur 200, soit 10,5 p. 100 ont présenté une floculation au-dessous de 30. Dans ce groupe ne sont pas comprises : l'observation n° 64; il s'agit ici d'une femme, fille d'un lépreux indemne de la lèpre et l'observation n° 70 d'un malade en cachexie lépreuse, mort trois jours après la prise de sang. Dans ce groupe rentrent les 11 malades en très bon état général, très améliorés par le traitement et aussi 3 vieux lépreux qui paraissent être stabilisés. Parmi les autres, on relève 4 cas de la lèpre tuberculoïde et 3 cas de la lèpre lépromateuse. Les floculations faibles, de 30 à 35 (37 réactions, soit 18,5 p. 100) ont été surtout observées, premièrement chez les malades très améliorés par le traitement, deuxièmement chez quelques vieux lépreux stabilisés et troisièmement chez quelques malades peu atteints. Les réactions très intenses, au-dessus de 100 (37 réactions, soit 18,5 p. 100) ont été vues chez les malades en réaction lépreuse, chez les vieux lépreux avancés, atteints surtout de la lèpre nodulaire et chez quelques malades apparemment peu touchés.

Les nouveaux malades non traités, dont certains avec des lésions peu importantes, présentent généralement des réactions positives et parfois même très fortement positives (voir observations nos 134, 136, 158 et 191). Ce fait est très important pour nous, car il nous indique qu'on ne doit pas incriminer le traitement (huile de Gorli ou de Chaulmoogra, bleu de méthylène, etc.) dans le cas de modifications pathologiques du sang des lépreux, modifications qui régissent cette floculation. Cette instabilité particulière du sérum paraît bien être due au bacille de Hansen lui-même.

La forme de la maladie semble avoir peu d'influence sur la réaction. En examinant bien les chiffres on constate que la lèpre tuberculoïde donne d'une façon générale des réactions d'une intensité moindre que les formes lépromateuses, quoique des réactions très intenses peuvent se rencontrer dans toutes les formes de la maladie. Nous avons eu l'impression qu'à quelques exceptions près l'intensité de la réaction correspond à la gravité de l'évolution de la maladie. Mais nous ne pouvons cependant pas tirer des conclusions définitives : seules les recherches ultérieures pourront nous éclairer à ce sujet.

Le fait qu'un certain nombre de lépreux donnent des floculations très faibles nous paraît normal pour deux raisons : 1° un

seul examen sérologique ne permet pas, dans tous les cas, d'affirmer l'absence de la maladie chez un sujet cliniquement suspect (syphilis, paludisme, etc.) ; 2° dans les maladies chroniques les réactions sérologiques s'éteignent assez fréquemment sans que le sujet soit guéri. L'exemple de la syphilis nous en fournit des preuves très démonstratives ; personne ne s'étonne, par exemple, que les réactions sérologiques de la syphilis soient fréquemment négatives chez des paralytiques généraux ou des tabétiques. D'après ces exemples on peut penser que le déséquilibre sérique indique une certaine activité dans l'évolution de la maladie. Quand le processus s'arrête ou même se localise, le sérum peut revenir peu à peu à l'état normal. Dans la lèpre, maladie chronique par excellence, qui évolue le plus souvent beaucoup plus lentement que la syphilis, les réactions sérologiques doivent présenter quelques particularités faciles à prévoir. Etant donné l'évolution de la lèpre par paliers, on doit constater l'affaiblissement de l'intensité du déséquilibre sérique en période de latence et une exacerbation en période d'évolution rapide de la maladie. Ce fait doit s'observer avec beaucoup plus de fréquence et de netteté dans la lèpre que dans la syphilis.

Pour le contrôle du traitement, l'intensité d'une réaction sérologique peut présenter un intérêt considérable. Les proportions de sérum et de l'antigène que nous avons utilisés à Bamako en parties égales ne donnent pas une réponse suffisamment sensible. Il serait préférable d'utiliser pour le contrôle du traitement et pour le pronostic de la maladie la réaction avec les trois quantités différentes de sérum, comme nous l'avons proposé plus haut. Tandis qu'au point de vue diagnostique les réactions faites avec les doses plus fortes de sérum présentent plus de sûreté, les chiffres plus élevés qu'on obtient dans la réaction avec de plus faibles quantités de sérum sont susceptibles de varier plus fortement et présenteraient de ce fait plus de facilité pour juger rapidement de l'efficacité du traitement.

Conclusions.

1° L'extrait alcoolique du sang formolé floccule d'une façon élective en présence de sérum lépreux.

2° Il existe deux zones distinctes de flocculation. Une, beaucoup plus spécifique, avec les doses importantes de sérum et une autre, moins spécifique, où le rapport sérum/antigène est beaucoup plus faible. Cette deuxième zone de flocculation est commune à tous les sérums. La flocculation dans cette zone est faible pour les sérums normaux, plus intense pour les sérums syphilitiques, encore plus intense pour les sérums lépreux.

3° Les mêmes extraits de tissus, non formolés, ne flocculent pas

en présence de sérums lépreux. La formolisation préalable des tissus est nécessaire, car l'addition de formol au sérum ou à l'antigène extrait de tissus non formolés n'agit pas du tout ou agit très faiblement.

4° L'extraction doit être faite avec de l'alcool à 90° : l'alcool d'un degré plus faible n'extrait pas les substances actives. L'alcool absolu permet d'obtenir des floculations très intenses, mais au détriment de la « spécificité ».

5° Les sérums chauffés à 55° pendant trente minutes flocculent plus intensivement que les sérums non chauffés ou chauffés à des températures plus basses ou plus élevées.

6° Cette floculation est indépendante de la réaction de Vernes au péréthynol, de celle à la résorcine, de la réaction de Henry et de la réaction de Bordet-Wassermann.

7° L'intensité de la floculation diminue avec l'élévation de la température à laquelle se produit la floculation.

8° La réaction a été éprouvée sur 200 sérums lépreux et 100 sérums non lépreux.

9° Cette réaction, d'une technique simple, paraît donner des résultats intéressants au point de vue pratique.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] EITNER. *Wien. klin. Wochenschr.*, 1906, n° 5, 1555.
- [2] ERLANDSEN (A.). *Zeitschr. f. Physiol. Chem.*, 1906, **50**, 71.
- [3] GOMES (J. M.). *Brasil. Medico.*, 1929, **43**, 1223.
- [4] JEANSELME (E.). *La lèpre*, Doin et C^o, édit., Paris, 1934.
- [5] KLINGMÜLLER (V.). *Die Lepra*, Julius Springer, édit., Berlin, 1930.
- [6] LECOMTE DE NOÛY. *Amer. J. Physiol.*, 1929, **90**, 464 ; ces *Annales*, 1930, **45**, 251 ; 1932, **48**, 187 ; 1933, **50**, 127 ; 1929, **43**, 749 ; 1930, **44**, 109.
- [7] LIE (H. P.). *Acta Dermat. Vener.*, 1925, **4**, 477.
- [8] MARCHOUX (E.). *Revue Hyg. et Police sanit.*, 1913, **35**, 883.
- [9] MARCHOUX (E.) et CARO (J.). Ces *Annales*, 1928, **42**, 542.
- [10] MARCHOUX (E.), MACHEBGEUF (M.), CHORINE (V.) et LÉVY (G.). Congrès de la Lèpre, Le Caire, 1938.
- [11] RUBINO (M. C.). *Soc. de Med. Secc. Derm. y Sifiligraphia*, 1926 ; *C. R. Soc. Biol.*, 1927, **96**, 225 ; ces *Annales*, 1931, **47**, 147.
- [12] RUBINO (M. C.). *C. R. Soc. Biol.*, 1934, **117**, 894.
- [13] TSURUMI (M.). *Zeitschr. f. Immun.*, 1913, **19**, 19.

EXPÉRIENCES D'INFECTION PAR UN SEUL BACILLE TUBERCULEUX ISOLÉ AU MICROMANIPULATEUR

par J. BRETEY.

(*Institut Pasteur. Laboratoires de recherches sur la tuberculose.*)

Il est probable que dans les conditions naturelles l'infection tuberculeuse ne se fait, sauf exception, que par un nombre peu élevé de germes. Au laboratoire, par contre, on est amené, pour écourter les expériences sans cela trop longues, à injecter au cobaye des doses énormes en comparaison. C'est-à-dire qu'on se trouve dans des conditions très artificielles, aussi mauvaises que possible pour l'étude de l'infection tuberculeuse.

Les doses calculées en poids ont un grand coefficient d'erreur dès qu'on arrive à des dilutions élevées. On observe alors des différences manifestes dans l'évolution et on ne sait s'il faut les attribuer au manque d'homogénéité de la suspension bactérienne ou à des différences individuelles de l'organisme des animaux. Cette discrimination serait pourtant bien importante pour permettre d'aborder l'étude du terrain tuberculeux.

Il est donc nécessaire de connaître la réponse du cobaye à l'injection de quelques unités de bacilles de Koch, étude qu'on ne peut faire dans de bonnes conditions que par micromanipulation. Les recherches de cet ordre sont peu nombreuses, sans doute en raison de difficultés inhérentes à la nature même de cet organisme.

Calmette (1), sans se baser sur des expériences de micromanipulation, admettait qu'une dose faible de bacilles de Koch : $1,10^{-7}$ mg. (qu'il pensait ne correspondre qu'à 4 bacilles, chiffre manifestement très au-dessous de la réalité) était « absolument inoffensive » pour le cobaye, même si elle était renouvelée une deuxième fois. Il pensait que seule la répétition de si faibles doses était capable de déclencher l'évolution tuberculeuse.

Webbs, Williams et Barber (2), utilisant la technique de ce

(1) A. CALMETTE, *L'infection bacillaire et la tuberculose*, 1936, 424-425, Masson et C^{ie}, édit., Paris.

(2) G. B. WEBBS, W. W. WILLIAMS et M. A. BARBER, *J. med. Res.*, 1909, 20, 1.

dernier, ne réussissent à tuberculiser régulièrement le cobaye que par l'injection sous-cutanée de 500 à 1.000 bacilles ; exceptionnellement, cependant, une fois après l'injection de 20 bacilles.

Thoeni et Thayssen (3) ont eu recours à une technique différente consistant à compter dans des gouttelettes, placées sur un fragment de verre, le nombre de germes déposés, puis à inclure ce fragment sous la peau ou dans le péritoine. Au cours d'une première expérience sur une vingtaine de cobayes qui ont reçu de 10 à 76 bacilles, un seul a été tuberculisé avec 71 bacilles. D'autres expériences, faites sur 22 cobayes et 3 souches différentes, avec 99 à 343 bacilles, sont restées négatives. Ils concluent que, contrairement à ce qu'admettaient des auteurs plus anciens, le cobaye ne peut être tuberculisé par un faible nombre de bacilles de Koch.

Levinthal (4), en revanche, utilisant le micromanipulateur de Peterfi muni d'une aiguille à bout arrondi, a injecté de 1 à 12 bacilles d'une souche humaine isolée huit ans auparavant. L'aiguille chargée des bacilles était essuyée sur un fragment de gélose qui était lui-même inséré sous la peau. 4 animaux sur 6 présentèrent, dès la fin de la cinquième semaine, des lésions tuberculeuses. Ils avaient reçu 1, 11 ou 12, 2 ou 3, 1 ou 2 bacilles. Une évolution aussi rapide avec des doses aussi minimales correspondrait à une virulence très élevée.

Birkhaug (5) a publié les résultats qu'il a observés à la suite de l'inoculation d'un seul bacille de variantes R et S d'une même souche bovine, dont les isolements ont été faits par L. Wamoscher. 2 cobayes sur 12 qui ont reçu la variante R ont été tuberculisés et 1 sur 12 avec la variante S. La micropipette contenant le bacille isolé était cassée dans la plaie cutanée. « Afin de s'assurer que le bacille était bien mis en liberté directement dans le tissu sous-cutané, on cherchait à écraser le point inoculé au moyen d'une paire de pinces plates. Il est très probable que le bacille reste pendant quelque temps à l'abri dans la micropipette, ce qui lui permet de se multiplier et l'empêche ainsi d'être détruit par les phagocytes ».

Cette dernière observation montre bien l'existence d'une difficulté. La micromanipulation doit être aussi peu traumatisante que possible, ce qui doit faire préférer la pipette à l'aiguille. Mais il faut empêcher que le bacille se trouve dans des conditions telles que pendant les premiers stades de sa présence dans l'organisme il se trouve mis à l'abri des moyens de défense de celui-ci. En effet, cela reviendrait à injecter non plus 1, mais bien une petite colonie de germes. Or le bacille tuberculeux peut se diviser assez rapidement dans l'organisme, bien plus vite que la croissance lente

(3) I. THOENI et A. C. THAYSSEN, *Zentralbl. Bakt.*, 1, 1916, 77, 308.

(4) W. LEVINTHAL, *Zeitschr. Hyg.*, 1927, 107, 387.

(5) K. A. BIRKHAUG, *C. R. Soc. Biol.*, 1935, 119, 156.

de ses colonies sur nos meilleurs milieux de culture pourrait le faire supposer.

La question de savoir si un seul bacille est capable de tuberculiser le cobaye est donc encore très controversée. Les essais déjà faits sont disparates, tant par les méthodes employées que par leurs résultats. C'est pour élucider les causes de ces variations que les expériences préliminaires suivantes ont été entreprises. Dans ce domaine, les conditions d'expérience jouent un rôle très important; nous ramènerons cependant au strict nécessaire les indications indispensables.

TECHNIQUE. — Le micromanipulateur dont nous nous sommes servi est celui de Peterfi, dont le maniement nécessite sans doute quelque entraînement, mais qui possède l'avantage, important à nos yeux, de permettre de travailler simultanément avec deux pipettes. Celles-ci, de 5 à 10 μ de diamètre, étaient faites à la main.

L'éclairage utilisé était le fond clair. Sans doute le fond noir eût été préférable, car il permet de vérifier avec bien moins de fatigue le nombre des germes dans chaque gouttelette. Mais il nécessite une optique spéciale dont nous ne disposions pas. Pour les essais que nous nous proposons de faire, le fond clair a été suffisant, à condition de faire un contrôle soigneux et prolongé du contenu de chaque gouttelette à ses différents niveaux. Mais pour un travail suivi, le fond noir serait indispensable. Nous avons utilisé un grossissement à sec de $\times 600$, suffisant pour voir avec certitude tout germe de la taille du bacille de Koch. La chaleur produite par l'ampoule légèrement survoltée qui servait à l'éclairage était arrêtée par une cuve à faces parallèles de 6 cm. d'épaisseur contenant une solution acidulée de sel de Mohr à 20 p. 100.

Nous avons utilisé exclusivement notre souche humaine H 239 isolée en juillet 1938 d'un placenta. A son isolement cette souche nous avait frappé par sa forte virulence et nous l'avons utilisée régulièrement depuis. Son pouvoir pathogène s'est atténué dans une certaine mesure. Au moment des expériences dont il est ici question, trois ans après son isolement, elle donnait au cobaye en cinq semaines des tubercules confluent sur la rate et un début de généralisation au foie et aux poumons à la dose de 1/5.000 de milligramme.

Les cultures de départ ont été repiquées sur pomme de terre en bouillon glyciné à plusieurs reprises à sept ou dix jours d'intervalle, ceci afin d'éliminer dans la mesure du possible les éléments les plus âgés. La suspension était préparée en eau physiologique, soit au ballon garni de billes de verre, soit au mortier d'agate, avec ou sans adjonction de bile (voir plus loin). Sous 2 cm. d'épaisseur, elle présentait un louche à peine perceptible.

La technique de micromanipulation proprement dite s'est inspirée à la fois de celle qui nous a été enseignée par L. Wamoscher (6) et des publications de J. Comandon et P. de Fonbrune (7). C'est ainsi que nous avons utilisé une chambre à huile de paraffine, moins parfaite assurément que celle de ces derniers auteurs, mais qui, préparée avec les moyens du laboratoire par simple collage de quelques plaques de verre, nous a permis néanmoins de travailler dans des conditions identiques. Pour qui a utilisé la chambre humide habituelle, cette nouvelle méthode présente de très grands avantages, car une grande partie des difficultés des manipulations se trouve supprimée.

Avec la première pipette, un certain nombre de gouttelettes étaient faites. Le contenu microbien de chacune était soigneusement vérifié. Lorsque l'examen en montrait une qui ne contenait indubitablement qu'un seul bacille, d'apparence normale et non altérée, celui-ci était aspiré dans la seconde pipette réservée à cet usage et qui avait été préalablement remplie d'une certaine quantité d'eau physiologique. Il était rejeté et réaspiré à deux ou trois reprises différentes, de façon à s'assurer qu'il n'avait que peu de tendance à se coller au verre. Il était réaspiré une dernière fois dans la micropipette. Celle-ci était alors détachée rapidement et vidée à peu près complètement dans la poche de décollement sous-cutanée faite sur le flanc d'un cobaye ne réagissant pas à la tuberculine. L'incision était pratiquée dans la région lombaire afin d'éviter une infection par les souillures de la litière. Il n'est évidemment pas absolument certain que le bacille ne soit pas resté fixé dans la pipette par adhésion au verre. Nous pensons cependant que c'était peu vraisemblable avec cette façon de faire. La plaie était refermée par quelques agrafes et une couche de collodion. A chaque nouvel isolement, la pipette était changée. Il n'y avait donc pas de risque qu'un bacille d'une opération antérieure se soit détaché par la suite.

Les expériences se divisent en deux groupes, selon que de la bile de bœuf a ou n'a pas été utilisée pour préparer la suspension. On sait que, comme Calmette l'a montré, l'adjonction de II ou III gouttes de bile de bœuf au début du broyage de la culture favorise beaucoup la mise en suspension de celle-ci en facilitant la mise en liberté des éléments. Il pouvait paraître préférable d'obtenir par ce moyen, plutôt que par un broyage très énergique — donc traumatisant — une suspension convenable.

EXPÉRIENCES AVEC SUSPENSIONS PRÉPARÉES SANS BILE. — Les essais ont été faits à trois reprises différentes avec un matériel et une suspension chaque fois renouvelés. 10 cobayes ont été ino-

(6) L. WAMOSCHER, *Zeitschr. Hyg. u. Infektionskr.*, 1930, **411**, 422.

(7) J. COMANDON et P. DE FONBRUNE, ces *Annales*, 1938, **60**, 113.

culés, dont 9 avec 1 seul bacille et 1 avec 3 bacilles. Des intradermo-réactions avec 0,1 c. c. de tuberculine diluée à 1 p. 20 ont été faites avant l'inoculation, puis aux septième, trente-sixième, quarante-cinquième, cinquante-huitième, soixante-treizième, quatre-vingt-sixième, cent treizième, cent trente-huitième et cent soixante-deuxième jours dans des conditions de stérilité parfaite.

Sur les 9 cobayes inoculés avec 1 seul bacille, 5 (n^{os} 2, 5, 6, 7 et 9) ont fait une tuberculose attestée par l'intradermo-réaction devenue positive du trente-sixième au quarante-cinquième jour et confirmée par l'autopsie qui a montré que le point de départ de la tuberculose correspondait bien à la plaie d'inoculation. Des lésions spléniques d'un de ces animaux nous avons récupéré la souche, appelée par la suite H 432, du n^o de cette expérience. Les 4 autres cobayes inoculés avec 1 bacille (n^{os} 1, 3, 4 et 8) ainsi que celui qui en avait reçu 3 (n^o 10), ont présenté des phénomènes particuliers en ce qui concerne leur sensibilité à la tuberculine et que nous exprimons dans le tableau ci-dessous.

Par + nous entendons une réaction positive à papule rouge, nette, de diamètre réduit (5-10 mm.), mais incontestable au point qu'on n'hésiterait guère à affirmer la nature tuberculeuse d'un produit qui aurait été inoculé pour un diagnostic. « Grand épaississement » (E) est une réaction un peu moins forte à laquelle nous attribuons de la valeur si elle se répète, et enfin « petit épaississement » (e) est une réaction tout à fait douteuse, mais qui n'est pas absolument négative. Sans doute ne s'agit-il là que de nuances qui pourraient être difficiles à apprécier pour quelqu'un qui n'aurait pas une grande habitude des réactions tuberculiniques.

TABLEAU I.

NUMÉRO du cobaye	BACILLES inoculés	AVANT	INTRADERMO-RÉACTION								
			au 7 ^e jour	au 36 ^e jour	au 45 ^e jour	au 58 ^e jour	au 73 ^e jour	au 86 ^e jour	au 113 ^e jour	au 138 ^e jour	au 162 ^e jour
1	1	—	—	—	e	+	+	+	—	—	—
3	1	—	—	E	E	E	—	—	—	—	—
4	1	—	—	e	—	—	—	—	—	—	—
8	1	—	—	E	e	—	—	—	—	—	—
10	3	—	—	+	E	+	+	—	—	—	—

La même solution de tuberculine a été utilisée sur des cobayes d'autres expériences et ceux d'entre eux qui n'étaient pas tuberculisés ont toujours répondu négativement. Nous rappelons, en outre, qu'à la dilution de 1 p. 20 les réactions d'irritation non spécifiques sont rendues bien improbables.

Ainsi donc, au même moment où commençaient à réagir les cobayes chez qui se produisait l'évolution tuberculeuse, certains des autres ne se comportaient plus comme des animaux neufs. 2 (n^{os} 1 et 10) ont pu être considérés pendant un mois et demi comme devenus tuberculeux. Un (3) a présenté une réaction plus faible mais qui s'est maintenue pendant le même laps de temps. Nous ne tiendrons pas compte des phénomènes trop incertains présentés par les deux derniers cobayes (4 et 8). Ces réactions ont apparu du trente-sixième au quarante-cinquième jour et ont duré six semaines environ, puis elles sont redevenues définitivement négatives.

Les cobayes 3 et 4 n'ont montré, à l'autopsie, aucune lésion suspecte de tuberculose. Les autres animaux considérés comme négatifs, ont été récupérés pour servir à d'autres expériences au cours desquelles ils ont été infectés. Or, nous avons eu la surprise de constater qu'ils ne se sont pas comportés comme des animaux neufs, mais bien comme des animaux antérieurement immunisés. Ce fait est évidemment en faveur de la nature spécifique des réactions tuberculiniques observées.

EXPÉRIENCES AVEC SUSPENSIONS PRÉPARÉES AVEC DE LA BILE. —

Dans une première expérience, 12 cobayes ont reçu 1 seul bacille de la même souche H 239. Aucun de ces animaux n'est devenu tuberculeux. Un seul (18) a présenté consécutivement 4 intradermo-réactions notées E, du quarante et unième au soixante-dix-huitième jour après l'infection. Les 11 autres cobayes, à part quelques réactions douteuses (e) survenues au hasard, n'ont eu que des réactions négatives.

Dans une seconde expérience, faite dans les mêmes conditions sur 8 cobayes, les réactions tuberculiniques ont été, sans exception, négatives à six reprises différentes. Ceux des cobayes survivants qui ont été récupérés pour d'autres expériences et qui ont été infectés, se sont comportés comme des animaux neufs.

DISCUSSION. — Le rôle néfaste de la bile apparaît clairement, car toutes les autres conditions étaient égales. Si elle favorise la mise en liberté des bacilles à l'état isolé, en revanche il semble bien que pour un nombre élevé d'entre eux, c'est au détriment de la vitalité ou de la virulence (8). Ce fait peut, à première vue, paraître surprenant lorsqu'on connaît la résistance du bacille de Koch dans les produits contaminés que l'on traite par de l'acide ou de la soude à des taux de concentration élevés. Il faut se rappeler cependant que les alcalins sont plus nocifs que les acides et, d'autre part, qu'il s'agit ici non pas de fragments d'organes

(8) Ceci explique pourquoi Calmette admettait que pour tuberculiser le cobaye il fallait une dose supérieure à 1.10^{-7} mg.

ou de crachats, mais d'une culture sans aucun produit organique susceptible d'atténuer l'action des agents chimiques.

Dans nos expériences on ne peut incriminer une multiplication se faisant à l'abri dans la pipette ou dans le bloc de gélose. Il paraît donc bien certain que, dans de bonnes conditions, un seul bacille tuberculeux provenant d'une souche assez virulente puisse, lorsqu'il est déposé dans une plaie sous-cutanée, provoquer l'évolution de la tuberculose avec de grandes chances de réussite. Nous avons pu ainsi tuberculiser 5 cobayes sur 9, pourcentage surprenant si on pense que la préparation de la suspension, puis la micromanipulation sont malgré tout des opérations traumatisantes et qu'il est probable que tous les germes d'une culture, même repiquée à une cadence accélérée, ne sont pas vivants.

Quant à l'interprétation de ces réactions tuberculiniques transitoirement positives, elle est fort délicate actuellement.

Ces faits correspondent d'ailleurs à d'autres, analogues, que nous avons observés à plusieurs reprises avec des produits que nous avions des raisons de considérer comme très faiblement tuberculisés.

Différentes hypothèses sont à envisager. Il est bien peu probable que les germes inoculés étaient morts. Pour qui connaît les fortes doses (supérieures à 0,01 mg.) de corps bacillaires stérilisés qu'il faut mettre en œuvre pour rendre le cobaye allergique, il paraît inconcevable de supposer qu'un seul de ces germes puisse, dans une certaine mesure, arriver à un tel résultat.

Si ces bacilles sont bien vivants, le cobaye est donc capable de surmonter l'infection dans certaines conditions. S'agirait-il d'une résistance organique particulièrement élevée chez certains animaux, « terrain » défavorable à la tuberculose; manifestation d'immunité naturelle? Ou serait-ce que certains bacilles, soit parce qu'ils seraient à un stade défavorable, ou trop vieux, ou trop jeune, ne se trouvent pas dans des conditions de multiplication normales? Une immunité suffisante, tout d'abord locale sans doute, aurait le temps de s'établir, gagnerait de vitesse sur la rapidité de multiplication du germe et empêcherait la dissémination consécutive. Rappelons à ce sujet que dès le début de la deuxième semaine, à la suite de scarifications cutanées de BCG, nous avons pu, avec L. Nègre, constater l'existence d'une immunité générale déjà notable. Il n'est pas absurde de penser qu'un bacille virulent puisse, en deux à quatre jours, avoir déjà modifié les cellules de son voisinage s'il n'a pas été entraîné par des cellules migratrices, et il est possible que dans ce délai la multiplication soit à peine ébauchée (9).

(9) D'ailleurs, poussant les choses à l'extrême, on pourrait même supposer que le bacille inoculé était encore vivant, quoique incapable de se reproduire; il faudrait alors admettre qu'un seul bacille vivant

Ce qui nous ferait incliner vers l'une ou l'autre de ces deux hypothèses, qui ne s'excluent pas l'une l'autre, c'est que pour tous les cobayes qui ont réagi, tant définitivement du fait de l'évolution tuberculeuse que transitoirement, les phénomènes de nature allergique se sont manifestés au même moment, un mois et demi après l'infection, c'est-à-dire relativement tôt et à une date qui correspond à celle qu'on observe avec de faibles doses de souches virulentes. Avec du BCG par exemple, bacille bien vivant mais avirulent, les réactions apparaissent en un mois et demi pour une dose de 0,000.1 mg. et en deux mois et demi pour 0,000.01 mg. Cet argument nous paraît infirmer l'existence d'une variante peu virulente de la souche, survenue par mutation.

L'existence antérieure d'une infection spontanée à bacilles tuberculeux acido-résistants plus ou moins typiques, est éliminée par le fait que l'intradermo-réaction était négative avant l'inoculation, et de telles infections sont rares. Quant aux bacilles paratuberculeux dont les animaux auraient pu être porteurs, ils sont, d'après nos connaissances actuelles, incapables d'engendrer l'immunité antituberculeuse.

Enfin, pour terminer, nous signalons que l'observation d'une immunité spécifique à l'égard d'une infection tuberculeuse pourrait, même chez des cobayes qui n'ont pas réagi d'une façon classique à la tuberculine, constituer un réactif plus sensible que l'allergie et que l'évolution tuberculeuse elle-même : si un produit pathologique, bien qu'incapable de provoquer ces deux manifestations, protégeait dans une certaine mesure le cobaye contre une infection d'épreuve, il existerait des présomptions en faveur de son origine tuberculeuse.

Nous n'avons, dans ces expériences de micromanipulation, tenu compte que des éléments bacillaires. Or, dans la plupart des suspensions, de très nombreux granules sont visibles au fond noir. Ces derniers éléments peuvent-ils jouer un rôle dans ces recherches délicates ? De nouvelles expériences sont donc nécessaires et doivent s'entourer de garanties techniques plus grandes encore.

Si les phénomènes allergiques atypiques que nous avons décrits se confirment, ils constitueraient, chez le cobaye, l'équivalent des observations faites chez l'homme, actuellement nombreuses et incontestables, de la disparition de l'allergie tuberculinique.

RÉSUMÉ.

Cinq fois sur neuf, le cobaye qui a reçu 1 seul bacille d'une souche virulente humaine, a été tuberculisé lorsque la suspension

pourrait déterminer un certain degré d'allergie, ce qui paraît peu probable dans le délai d'apparition des phénomènes observés.

bacillaire était préparée sans adjonction de bile de bœuf. Dans le cas contraire, les résultats ont été entièrement négatifs sur 20 cobayes.

Chez un certain nombre d'animaux qui n'ont pas fait d'évolution tuberculeuse, ont apparu des réactions allergiques atypiques, constatées à plusieurs reprises successives pendant plus d'un mois et qui ont disparu ensuite. Ces cobayes se sont, par la suite, comportés à l'égard d'une infection virulente, comme s'ils avaient été vaccinés. Différentes hypothèses sont examinées à ce sujet.

Si ces faits se confirment, on pourrait admettre que la recherche de l'immunité chez des cobayes ayant reçu un produit suspect pourrait constituer un test particulièrement sensible, plus que ne l'est la sensibilité tuberculinique ou l'évolution tuberculeuse.

ÉTUDES SUR LE POUVOIR ANTISULFAMIDE

IX. — ESSAIS DE FRACTIONNEMENT DES PEPTONES [MULTIPLICITÉ DES FACTEURS ANTISULFAMIDES] (*)

par J. TABONE, F. NITTI et H. MOUSSET.

Puisqu'on ne peut pas attribuer le pouvoir antisulfamide des peptones à la présence dans celles-ci d'acide para-aminobenzoïque (1), on peut faire l'hypothèse de travail selon laquelle les peptones renferment une substance antisulfamide très active et encore inconnue.

Dans le présent travail, on détermine le pouvoir antisulfamide de différentes fractions de peptones. Les fractions les plus actives nous serviront de matériel d'étude dans les essais que nous nous proposons d'entreprendre pour isoler la substance antisulfamide hypothétique.

A. ÉTUDE DE LA FRACTION NON PROTIDIQUE DU MUSCLE. — Les peptones de muscle ont un pouvoir antisulfamide très supérieur à celui des peptones de myogène et de myosine (2) qui sont les protéines essentielles du muscle. Aussi pouvons-nous supposer que les éléments non protidiques du muscle interviennent dans le mécanisme de l'action antisulfamide de l'hydrolysate enzymatique du muscle.

La fraction non protidique du muscle a été obtenue à partir du muscle de lapin préalablement perfusé avec une solution isotonique de ClNa . Le muscle est trituré au mortier en présence de sable et d'eau distillée. La mixture est exprimée dans une presse. Le suc est filtré, le filtrat porté au bain-marie bouillant pendant vingt minutes. On filtre pour séparer les protéines qui ont coagulé. La liqueur limpide est amenée à sec sous pression réduite, et le résidu repris par un peu d'eau distillée. On filtre, on porte le filtrat au bain-marie bouillant ; il ne se forme plus de précipité.

Notre étude a porté sur cette solution.

Myogène et myosine ont été obtenus selon les méthodes classiques à partir du muscle de lapin perfusé (3).

(*) Séance du 2 décembre 1943 de l'Association des Microbiologistes de Langue Française.

(1) J. TABONE et F. NITTI, ces *Annales*, 1942, **68**, 471.

(2) F. NITTI, J. TABONE, H. MOUSSET et M. SÉNÉCAL, ces *Annales*, 1943, **69**, 303.

(3) SMITH, *J. Soc. Chem. Ind.*, 1934, 351.

Les peptones de muscle, de myogène, de myosine ont été obtenues par hydrolyse trypsique à 38° en présence de toluène, à pH 8,2 pendant quatorze jours.

Les résultats obtenus sont reproduits dans le tableau I.

TABLEAU I.

	N TOTAL exprimé en milligrammes pour 1 c.c. de solution	POUVOIR antisulfamide (+++) exprimé en γ d'acide p. a. b. pour 1 g. d'N total
Peptone de muscle	14,42	5.600
Peptone de myosine	16,46	1.500
Peptone de myogène	16,46	1.200
Mélange du type peptone de muscle, moins suc aqueux (+)	16,46	2.100
Mélange du type peptone de muscle(++).	12,81	6 200
Suc aqueux de muscle déprotéiné . . .	9,17	450

(+), obtenu en mélangeant 67 p. 100 de la solution de peptone de myosine avec 9 p. 100 de la solution de peptone de myogène (1); (++) obtenu en mélangeant un volume de la solution précédente(+) avec un volume de suc aqueux de muscle déprotéiné; (+++), toutes les déterminations du pouvoir antisulfamide sont faites en utilisant le *Proteus* comme réactif microbien. Les lectures sont faites après vingt-quatre heures.
(1) James GARDEN SHARP, *Biochem. J.*, 1939, 33, 679.

Nous retrouvons ici le fait déjà signalé (2), à savoir que le pouvoir antisulfamide de la peptone de muscle est supérieur à celui de la peptone de myosine ou de myogène. Il est également supérieur à celui d'un mélange de peptone de myosine et de myogène réalisé dans les proportions qui sont celles dans lesquelles se trouvent les deux protéines dans le muscle lui-même.

Nous remarquerons enfin que l'addition, à ce dernier mélange, de suc aqueux de muscle déprotéiné a pour résultat d'élever considérablement le pouvoir antisulfamide du mélange, bien que ce suc aqueux ait lui-même un pouvoir antisulfamide très faible. Nous dirons que le suc aqueux contient des facteurs exaltants.

B. ÉTUDE DES FRACTIONS SOLUBLE ET INSOLUBLE DANS LES SOLUTIONS ALCOOLIQUES DE PEPTONE. — En versant de l'alcool éthylique dans une solution aqueuse de peptone, il se forme un précipité. L'importance de ce précipité croît quand s'élève la concentration de la solution en alcool.

Nous avons étudié les deux fractions qui se séparent quand à 1 volume de solution aqueuse de peptone on ajoute 9 volumes d'alcool éthylique.

La fraction insoluble dans la solution alcoolique forme un précipité gluant; celui-ci est desséché dans le vide afin d'en éliminer l'alcool

éthylque. Le résidu est repris par l'eau distillée. On obtient ainsi une solution colorée en brun dont on détermine la teneur en azote total.

La fraction qui reste en solution dans la liqueur alcoolique est obtenue en évaporant à sec la solution de façon à éliminer l'alcool ; on reprend le résidu par l'eau distillée. Cette solution est jaune d'or. On l'amène à avoir la même concentration en azote total que la fraction précédente.

Les résultats sont reproduits dans le tableau II, expérience I.

On voit que la fraction la plus dégradée a le pouvoir antisulfamide le plus élevé. Cependant ces deux fractions ne semblent pas très nettement différenciées.

C. ETUDE DES FRACTIONS SOLUBLE ET INSOLUBLE DANS LA SOLUTION SATURÉE EN SULFATE D'AMMONIUM. — Quand on ajoute du sulfate d'ammonium cristallisé à une solution aqueuse de peptone, il se forme un précipité à partir du moment où la solution a atteint une certaine concentration en sulfate d'ammonium.

Nous avons étudié seulement les fractions qui se séparent quand la solution est saturée en sulfate d'ammonium.

Il se forme alors un gâteau brun qui surnage une solution jaune clair. On décante la solution. Le gâteau est dissous dans de l'eau distillée. Cette dernière solution est insolubilisée à nouveau par le sulfate d'ammonium à saturation. La partie insoluble est dissoute une seconde fois dans l'eau.

Nous obtenons ainsi deux solutions, l'une contenant la fraction soluble dans le sulfate d'ammonium à saturation, et l'autre la fraction insoluble. On élimine le sulfate d'ammonium en ajoutant aux solutions un lait de baryte jusqu'à ce qu'elles en renferment un très léger excès. On centrifuge. On élimine l'ammoniaque en partie en soumettant les liqueurs à un fort courant d'air privé de gaz carbonique. L'ammoniaque restant est éliminé en concentrant les solutions à basse température. On élimine ensuite l'excès de baryte par un léger excès d'acide sulfurique. On centrifuge, on neutralise.

On détermine sur les solutions finales le pouvoir antisulfamide et la teneur en azote aminé.

Les résultats figurent sur le tableau II, expérience II.

Là encore la fraction la plus active est la fraction la plus riche en azote aminé, c'est-à-dire celle qui contient le plus de molécules les plus simples.

Les deux fractions sont bien différenciées du point de vue anti-sulfamide. Le rapport de leur activité est environ de 15.

D. ETUDE DES FRACTIONS SÉPARÉES AU MOYEN DE L'ALCOOL BUTYLIQUE. — On applique à la solution de peptone la méthode imaginée par Dakin (5) pour la séparation des acides aminés.

(5) DAKIN, *J. biol. Chem.*, 1920, **44**, 499.

TABLEAU II.

	N AMINE exprimé en grammes pour 1 g. d'N total	POUVOIR antisulfamide exprimé en γ d'acide p.a.b. pour 1 g. d'N total
Expérience I :		
Fraction soluble dans l'alcool.	0,37	2.700
Fraction insoluble dans l'alcool.	0,21	1.400
Expérience II :		
Fraction soluble dans le sulfate d'ammonium à saturation.	0,37	5.400
Fraction insoluble dans le sulfate d'ammonium à saturation.	0,08	350
Expérience III :		
Fraction extraite par l'alcool butylique, mais non soluble dans ce solvant anhydre.	0,60	11.000
Fraction précédente :		
a) Après hydrolyse alcaline.	0,80	5.500
b) Après hydrolyse acide	0,75	2.750
Fraction extraite par l'alcool butylique et soluble dans ce solvant anhydre.	0,31	1.900
Fraction non extraite par l'acide butylique.	0,24	1.200
Fraction précédente :		
a) Après hydrolyse acide	0,66	600
b) Après hydrolyse alcaline.	0,72	600

L'épuisement de la solution aqueuse de peptone par l'alcool butylique se fait dans un appareil à extraction continue dans le vide (3 cm. de Hg). La température du thermostat dans lequel plonge le ballon renfermant l'alcool butylique est de 60°.

On isole ainsi 3 fractions : la fraction non extraite par l'alcool butylique qui reste en solution dans la phase aqueuse, la fraction qui est extraite par l'alcool butylique mais qui n'est pas soluble dans un petit volume de ce solvant anhydre ; enfin la fraction qui, extraite par l'alcool butylique, est soluble dans ce solvant anhydre.

Quand cette méthode est appliquée à un hydrolysât total de protéines, la première fraction contient les acides monoaminés diacides et les acides diaminés monoacides, la deuxième la plupart des acides monoaminé-monocarboxyliques, la troisième est surtout riche en proline et en dicétopipérazines.

Avant de déterminer sur nos fractions le pouvoir antisulfamide, nous avons éliminé l'alcool par évaporation ; nous les avons de plus amenées à avoir des teneurs en azote total très voisines.

Les hydrolyses ont été faites en ajoutant aux solutions un volume égal soit de lessive de soude à 36°, soit de l'acide chlorhydrique concentré. On maintient les solutions au bain-marie bouillant pendant cinq heures. On neutralise, on filtre et on complète à un volume déterminé.

Les résultats obtenus figurent sur le tableau II, expérience III.

On voit que les fractions obtenues sont d'autant plus actives que leur teneur en azote aminé est plus élevée.

La fraction la plus active est la fraction extraite par l'alcool butylique et non soluble dans ce solvant. Elle n'est pas constituée uniquement par des acides aminés, mais renferme encore des liaisons peptidiques ; celles-ci sont peu nombreuses.

A propos de cette fraction, nous remarquerons aussi que son pouvoir antisulfamide baisse du fait de l'hydrolyse alcaline et plus encore quand on la soumet à une hydrolyse acide.

Ajoutons enfin que la différence qui existe entre le pouvoir antisulfamide de cette fraction et celui de son hydrolysate alcalin diminue en fonction du temps. Cette différence est de 50 p. 100 dans les cultures de 24 heures, de 20 p. 100 dans les cultures de 36 heures, elle devient nulle dans les cultures de 72 heures.

La même différence observée entre le pouvoir antisulfamide de la fraction et celui de son hydrolysate acide diminue aussi en fonction du temps, mais ne devient pas nulle.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS. — Les fractions que nous avons étudiées se comportent de façons bien différentes vis-à-vis du sulfamide.

L'une a un pouvoir antisulfamide presque nul. C'est la partie non protidique du muscle. Elle intervient dans le mécanisme de l'action antisulfamide des peptones en augmentant considérablement le pouvoir antisulfamide des autres fractions. Parmi celles-ci, on distinguera les fractions dont la teneur en azote aminé est faible. Ces fractions sont riches en gros polypeptides, leur pouvoir antisulfamide est faible. Les autres fractions ont une teneur en azote aminé élevée, elles renferment surtout des acides aminés et des peptides de faible poids moléculaire ; leur pouvoir antisulfamide est le plus fort.

Tout semble nous amener à penser que les fractions les plus dégradées renferment la plus grande quantité de la substance antisulfamide hypothétique.

Ce sont ces fractions qui devront nous servir de matériel d'étude dans les tentatives d'isolement de la substance antisulfamide proprement dite et encore hypothétique.

Pour ce qui est des substances exaltantes, il ne faudrait pas croire qu'elles proviennent uniquement de la fraction non protidique du muscle. Au contraire, il semble qu'une grande partie de la peptone elle-même soit douée de cette qualité. En réalité, nous croyons que toute substance azotée est exaltante quand elle tend à modifier le milieu synthétique dans lequel se développe le microbe au cours de nos mesures, de façon à rapprocher ce milieu du milieu naturel dans lequel se développent normalement les germes : *Proteus*, *B. coli*, etc.

Nous avons mentionné, à propos de la fraction entraînée par l'alcool butylique, mais non soluble dans ce solvant, le fait que la différence d'activité entre la solution et son hydrolysât diminue en fonction du temps jusqu'à devenir nulle. Ce fait, si l'on admet que la substance antisulfamide proprement dite est unique, devrait être interprété comme suit : d'une part les substances détruites au cours de l'hydrolyse sont des facteurs exaltants, d'autre part ces facteurs exaltants interviennent surtout dans les premières heures de la culture. Il ne semble pas que tous les facteurs exaltants agissent de la même façon.

Nous pouvons nous demander si la substance antisulfamide proprement dite existe vraiment. En effet, nous savons d'une part que dans la théorie classique il est nécessaire qu'une réelle analogie de structure chimique existe entre le métabolite et le faux métabolite, et d'autre part nous rappelons que dans nos études antérieures il ne nous avait pas été possible de trouver dans les peptones des structures chimiques rappelant celles du sulfamide, c'est-à-dire des structures pouvant éventuellement être celles de substances antagonistes du sulfamide.

Si les peptones ne renfermaient pas de substance antisulfamide proprement dite, peut-être leur pouvoir antisulfamide serait-il uniquement dû à certains facteurs ou à leur mélange. Ces facteurs aideraient les microbes dans sa défense vis-à-vis du sulfamide de façons qui peuvent être multiples : peut-être aussi permettraient-ils aux microbes de fabriquer en plus grande quantité le véritable antisulfamide. Celui-ci, que nous recherchons avec tous les auteurs dans les peptones, pourrait alors être un produit du métabolisme des peptones ; peut-être ce produit de métabolisme serait-il l'acide para-aminobenzoïque lui-même. Il s'agit d'une simple hypothèse de travail dont les expériences en cours doivent vérifier la validité.

EN RÉSUMÉ. — Le pouvoir antisulfamide des peptones s'accumule dans les fractions les plus riches en substances les plus dégradées : acides aminés, peptides à chaînes courtes, etc.

Ce pouvoir antisulfamide est le résultat de différents facteurs : facteurs exaltants et substance antisulfamide proprement dite.

L'existence de cette dernière substance dans les peptones est pour l'instant encore hypothétique.

L'ION CALCIUM DANS LA PHYSIOLOGIE DU LEUCOCYTE (*)

par ALBERT DELAUNAY.

(Institut Pasteur. Annexe de Garches.)

Au cours de l'étude systématique que nous poursuivons depuis 1940 sur l'histophysiologie de la réaction inflammatoire, nous avons découvert l'action inhibitrice que les antigènes glucido-lipidiques exercent sur l'afflux des globules blancs dans les foyers infectieux (1) et démontré le mécanisme de cette action (2). Toutes ces recherches nous ont conduit à nous préoccuper de certains aspects de la physiologie des leucocytes eux-mêmes, et en particulier des conditions qui règlent leur motilité. A cet égard, le rôle des ions nous est apparu comme étant très important.

C'est d'ailleurs une des notions les plus solidement établies en biologie comparée que l'action des ions, et spécialement de l'ion calcium, sur la « matière vivante ». Il suffit de rappeler à ce sujet les travaux classiques de Ringer sur le muscle cardiaque, de Jacques Loeb sur divers animaux marins (*Fundulus*, etc.), et tous ceux, innombrables, consacrés à l'excitabilité du muscle et du nerf, à la perméabilité des cellules animales et végétales, à la respiration des êtres aquatiques, à la survie des bactéries, à leur respiration, à leur lyse par les bactériophages, etc. Nous apportons aujourd'hui des résultats où se montre mise en lumière l'action capitale qu'exerce l'ion calcium sur la motilité des globules blancs.

Par ses grandes lignes, la méthode d'examen dont nous nous sommes servi s'inspire de la technique utilisée par M. Comandon dans ses films sur la phagocytose (3). Des grains d'amidon, isolés extemporanément de la pomme de terre sont étalés sur des lames et fixés par dessiccation. Sur ces préparations, nous laissons

(*) Communication présentée à la séance du 2 décembre 1943 de l'Association des Microbiologistes de Langue Française.

(1) A. DELAUNAY, M. DELAUNAY et Y. LEHOULT, *C. R. Soc. Biol.*, 1942, 436, 259. — A. DELAUNAY, *Rev. Immunol.*, 1942, 7, 33 ; *Ces Annales*, 1942, 68, 72.

(2) A. DELAUNAY, *Rev. Immunol.*, 1942, 7, 208 ; *C. R. Soc. Biol.*, 1942, 436, 729 et séance de la Société de Biologie du 11 décembre 1943.

(3) J. COMANDON, *ces Annales*, 1920, 34, 1.

tomber quelques gouttes d'une suspension leucocytaire diluée avec de l'eau ou les solutions salées dont nous parlerons dans un instant. La suspension leucocytaire, très riche en polynucléaires, a été retirée d'un péritoine de cobaye préparé quelques heures plus tôt par une injection de bouillon stérile. On recouvre les gouttes d'une lamelle, on lute celle-ci et l'on dépose enfin la préparation à l'étuve à 37°. Dans les conditions normales, c'est-à-dire lorsqu'on opère avec un exsudat leucocytaire dilué à parties égales avec de l'eau, il se produit très rapidement une migration très nette des globules blancs vers les grains d'amidon. En moins d'une heure, un très grand nombre de grains sont sertis par plusieurs leucocytes qui se sont accolés à leur périphérie, se moulant sur eux et prenant ainsi la forme de croissants irréguliers.

Si nous diluons à présent dans les mêmes conditions notre suspension leucocytaire avec des solutions de concentration variable de Cl_2Ca , nous constatons les faits suivants. Tant que la surcharge en calcium reste inférieure au 1/10 de milligramme par centimètre cube, on ne constate aucune action vraiment appréciable du sel sur le tactisme des globules blancs. Au 1/10 de milligramme, en revanche, on discerne une action favorisante très nette du calcium : le tactisme s'est effectué de façon beaucoup plus rapide que sur la lame témoin. En une heure, une véritable gaine de leucocytes s'est formée autour des grains d'amidon. Aux concentrations supérieures, cette action favorisante tend progressivement à diminuer, pour se transformer finalement en action inhibitrice dès qu'on opère avec des doses supérieures à 10 mg. de calcium par centimètre cube. Aux doses encore plus élevées (100 mg. par exemple par centimètre cube), il ne se produit plus aucun mouvement leucocytaire. Bien plus, les leucocytes apparaissent altérés, étirés, crénelés ; vraisemblablement ils sont tués. D'après cette expérience, le chlorure de calcium paraît donc capable, à certaines concentrations, de renforcer le tactisme des globules blancs, et aux concentrations toxiques de ralentir le tactisme, puis de tuer finalement les cellules.

Poursuivant nos recherches, nous nous sommes demandé ce que devenait la motilité des leucocytes dans un milieu dépourvu d'ion calcium. Pour le savoir, et afin de toucher le moins possible aux autres constituants du milieu dont nous nous servions, c'est-à-dire du plasma péritonéal, nous avons opéré de la façon suivante.

Nous avons cherché à « bloquer » le calcium dans l'exsudat par du citrate de soude. On sait en effet que le citrate a la propriété de se combiner avec le calcium en donnant des ions complexes, solubles. Ajoutant des doses variables de citrate de soude à différents échantillons d'un même exsudat, et opérant ensuite comme précédemment, nous avons observé les faits suivants. Des concentrations de citrate inférieures au milligramme par centi-

mètre cube permettent au tactisme des globules blancs de s'exercer parfaitement. Le tactisme est un peu gêné par une dose correspondant au milligramme. *Il est complètement inhibé* lorsqu'on a ajouté à l'exsudat 1 cg. ou même 5 mg. de citrate par centimètre cube : les leucocytes demeurent à la place qu'ils occupaient au début de l'expérience et les grains d'amidon restent libres. Les globules blancs, toutefois, ne sont pas morts : morphologiquement, ils restent intacts, et s'ils ne se meuvent plus, ils restent capables, comme on le voit très facilement, de subir sur place des déformations pseudopodiques.

Cet arrêt brutal de tout mouvement leucocytaire, succédant à l'addition de citrate, est sous la dépendance du manque d'ion calcium libre dans l'exsudat. Les faits suivants le prouvent : a) on peut provoquer cet arrêt en ajoutant aussi bien au plasma péritonéal de l'oxalate de soude (1 cg. par centimètre cube) que du citrate de soude. Or, comme on sait, l'oxalate élimine l'ion calcium par formation d'oxalate de chaux insoluble ; b) les leucocytes retrouvent tout leur pouvoir migrateur lorsqu'on élimine de la préparation le plasma citraté et qu'on remet les cellules dans du plasma normal de cobaye ; c) enfin les leucocytes, placés dans un milieu fortement citraté, se dirigent à nouveau et avec force vers les grains d'amidon dès qu'on additionne ce milieu d'une quantité convenable de chlorure de calcium. Cette fois le rôle capital exercé par le chlorure de calcium dans les phénomènes de motilité leucocytaire apparaît pleinement évident.

Pareille constatation ne doit pas surprendre. Bien avant nous, Hamburger et son école avaient démontré l'importance du calcium dans la physiologie des globules blancs ; mais ils l'avaient fait d'un point de vue très différent du nôtre, en s'intéressant exclusivement à une autre fonction des globules blancs, à l'englobement phagocytaire. Selon Hamburger, l'addition de sels de calcium à une suspension phagocytaire favorise grandement l'absorption des corps étrangers par les leucocytes.

Nous avons repris cette question et nous nous sommes aperçu qu'une dose de citrate de soude, suffisante pour empêcher complètement tout déplacement leucocytaire, ne supprimait pas en même temps le pouvoir qu'ont les globules blancs d'englober des corps étrangers. Les sels de calcium sont donc moins nécessaires pour la phagocytose que pour le tactisme. C'est ainsi qu'une dose de citrate de soude de l'ordre de 5 mg. par centimètre cube, dose suffisante pour empêcher tout tactisme leucocytaire dans un exsudat par blocage du calcium, permet encore aux globules blancs de ce milieu d'absorber des microbes vivants tels que des staphylocoques. Sans doute, elle ralentit ce dernier phénomène de manière évidente. Pourtant elle ne l'entrave pas complètement.

Par cette expérience, nous apportons la preuve que les deux propriétés essentielles du leucocyte : son pouvoir de se déplacer,

son pouvoir phagocytaire, peuvent être dissociées l'une de l'autre. On voit ainsi que contrairement à ce qu'avaient imaginé certains auteurs, l'acte d'englobement n'est pas qu'une simple et banale conséquence de l'acte de cheminement. Du reste, la nature nous offre un exemple de cette dissociation entre les deux fonctions du phagocyte, puisqu'elle nous montre, à côté des phagocytes mobiles comme les leucocytes du sang, les phagocytes fixes du système réticulo-endothélial.

Ces faits étant acquis, de nombreuses questions demeurent à étudier et, en particulier, il faudra rechercher si quelque antagonisme entre les ions monovalents (Na^+ , K^+) et bivalents (Ca^{++}) intervient dans la physiologie du leucocyte comme il intervient dans la physiologie de tant d'autres cellules.

ASSOCIATION DES MICROBIOLOGISTES DE LANGUE FRANÇAISE

(*Institut Pasteur, 25, rue du Docteur-Roux, Paris (15^e.)*)

Séance du 2 décembre 1943.

COMMUNICATIONS (*SUITE ET FIN*)

SEPTICÉMIES, HÉMOCULTURES ET FORMES ÉVOLUTIVES DES BACTÉRIES

par R. NATIVELLE.

L'étude systématique de nombreuses hémocultures pratiquées pendant dix ans dans un important service de médecine, au cours d'états septicémiques très divers, nous a permis de noter certaines particularités qui nous semblent mériter une attention spéciale.

1° Un ballon d'hémoculture peut se troubler et présenter un trouble important sans que l'on trouve à l'examen microscopique de germes offrant une forme et une colorabilité classiques ; les subcultures pratiquées à ce stade restent souvent négatives. On remarque presque toujours entre lame et lamelle la présence de nombreux corpuscules très petits à la limite de la visibilité, animés de mouvements browniens. Cet aspect apparaît généralement au cours des dix à quinze jours qui suivent l'ensemencement du sang. Ce trouble peut s'atténuer et faire place progressivement à la limpidité initiale. Parallèlement les corpuscules se raréfient alors et finalement disparaissent. Dans d'autres cas, au contraire, ce trouble s'intensifie et l'on assiste à l'apparition d'une culture de germes ayant une forme et une colorabilité normales et fournissant des repiquages positifs ; le plus souvent il s'agit de cocci Gram positifs et, en particulier, de streptocoques.

2° Entre ce stade de corpuscules extrêmement petits et le stade où apparaissent des microbes de forme classique, peuvent se situer des stades intermédiaires ; on voit alors des masses de corps coccoides Gram négatifs, d'aspect et de formes grossiers, rappelant certains aspects du *B. funduliformis* ; dans certains cas, les contours de ces masses sont particulièrement imprécis, donnant l'aspect de formes « à l'estompe ».

Parfois, en suivant très attentivement de jour en jour leur évolution, on voit leur contour se préciser, la coloration devenir plus nette, le microbe se façonner en quelque sorte ; sa forme devient régulière, plus

svelte, plus condensée ; le microbe (si l'on envisage le streptocoque, cas le plus fréquent) prend de plus en plus intensément la coloration de Gram et le cycle évolutif complet est réalisé. Mais, avant d'arriver à ce stade, le trouble du bouillon peut encore disparaître et parallèlement disparaissent les masses coccoïdes ; le cycle évolutif n'a été qu'ébauché. Ces aspects sont fréquents dans les hémocultures pratiquées au cours de septicémies diverses ; mais on les trouve avec une particulière fréquence dans les septicémies traitées par les sulfamides.

Plus rarement, avant d'arriver à un stade de coccus Gram positif bien défini, d'autres aspects intermédiaires peuvent être observés rappelant de plus ou moins près l'aspect du *B. subtilis*, les bacilles pseudodiphtériques ou même le méningocoque.

Comment interpréter ces faits ?

1° Les corpuscules brillants très petits ne sauraient être confondus avec des plaquettes sanguines ; ces dernières sont en beaucoup moins grand nombre, ne troublent pas le milieu ; elles ne se colorent pas par le Ziehl dilué mais par des colorants spéciaux, tels le Giemsa ; elles se raréfient à mesure que l'hémoculture vieillit et, contrairement aux corpuscules brillants, leur aspect ne se modifie pas avec le temps.

2° Les masses coccoïdes ne doivent pas être confondues avec des débris sanguins : les globules rouges plus ou moins déformés ont un aspect très différent, crénelé, irrégulier, nullement flou ; ils ne troublent pas le milieu, se raréfient progressivement, ne peuvent se développer comme les masses coccoïdes sur d'autres milieux (gélose, bouillon, gélose de Veillon). On n'observe jamais, avec les seuls globules rouges, les stades de transformation qui vont de l'aspect coccoïde grossier, la plupart du temps Gram négatif, à des cocci fins, nets, à contours précis, prenant le Gram.

Nous éliminons, est-il besoin de le dire, les contaminations ; les figures observées en ce cas n'en ont ni l'aspect, ni la date d'apparition ; elles ne se transforment pas progressivement en cocci Gram positifs ; et, en outre, jamais elles ne réagissent une fois apparues.

Une seule hypothèse nous semble pouvoir expliquer ces phénomènes : les cocci Gram positifs, le streptocoque en particulier, peuvent présenter un cycle évolutif comportant une phase invisible, une phase visible, et parfois des stades intermédiaires. Cette hypothèse se rapproche de celle de Charles Nicolle admettant dans son « Destin des maladies infectieuses » deux formes de reproduction des microbes, la division transversale et la transformation granuleuse comportant plusieurs stades et un cycle évolutif complexe, le premier mode de reproduction répondant fréquemment à la vie saprophyte, le second plus spécialement adapté à la propriété virulente.

Si nous comparons les aspects observés dans nos hémocultures aux aspects décrits par les auteurs qui ont étudié les formes filtrantes des streptocoques, nous retrouvons fréquemment des étapes successives avec des granulations, des masses coccoïdes assez imprécises et irrégulières, aux affinités tinctoriales variables avant l'apparition du streptocoque.

Nous avons étudié comparativement nos hémocultures et les résultats fournis par la filtration sur bougie Chamberland L₃, de cultures typiques de streptocoques et nous avons observé des résultats tout à fait analogues : présence de corpuscules extrêmement petits, animés

de mouvements browniens dans des milieux qui se troublent en un délai moyen de dix jours, présence assez fréquente de stades intermédiaires avec éléments coccoïdes.

L'apparition de ces formes filtrantes étant extrêmement capricieuse, nous avons amélioré le pourcentage des résultats positifs au cours de cette expérimentation en utilisant la technique suivante : l'on injecte une dose massive d'une culture pure de streptocoques de vingt-quatre heures dans le péritoine d'un cobaye ; l'animal est sacrifié quatre heures après ; le liquide prélevé est filtré immédiatement sur bougie Chamberland L₃ et aussitôt mis à l'étuve ; lorsque la culture réussit, un trouble apparaît dans un délai de sept à dix jours.

Conclusion. — En présence d'hémocultures troubles coïncidant avec l'existence d'éléments anormaux au microscope, l'on a souvent tendance à conclure prématurément à la présence de germes de contamination, de débris globulaires ou de microbes nouveaux ou rares. Une étude plus attentive, à la faveur des notions de filtrabilité et de mutation des microbes, avec possibilité de stades invisibles et visibles et de stades intermédiaires, permet souvent de conclure à la présence de microbes classiques dont les aspects initiaux seuls peuvent être atypiques et risquent de faire errer le diagnostic.

(Service du Professeur agrégé René MOREAU, Hospice de Bicêtre.)

**COMPORTEMENT DES ACIDES AMINÉS
VIS-A-VIS DU *p*-AMINOPHÉNYLSULFAMIDE
(LEUR RÔLE PROBABLE
DANS LE MÉCANISME DE L'ACTION ANTISULFAMIDE)**

par F. NITTI, J. TABONE et H. MOUSSET.

Dans la note précédente *, nous avons montré avec Tabone et Mousset que le pouvoir antisulfamide s'accumule dans les fractions protéiques les plus dégradées.

Nous avons d'autre part eu l'occasion de déterminer le pouvoir antisulfamide des peptones d'ovalbumine chez lesquelles l'hydrolyse par la trypsine était poussée très loin (83 p. 100). Ces peptones avaient un pouvoir antisulfamide évident. Enfin nous avons montré qu'en hydrolysant par des acides ou des alcalis les peptones on constate une baisse dans l'intensité de leur pouvoir antisulfamide, mais que celui-ci garde une valeur non négligeable.

Ces faits nous ont conduits à nous demander si les acides aminés, termes ultimes de la dégradation des protéines, n'étaient pas responsables de l'activité antisulfamide des hydrolysats enzymatiques ou chimiques des protéines.

Il ne nous a pas été possible d'étudier tous les acides aminés connus.

En utilisant comme réactif microbien le *Proteus vulgaris* X 19 et en faisant les lectures au bout de vingt-quatre heures, nous avons trouvé que certains acides aminés sont doués d'une activité antisulfamide légère qui, exprimée en γ d'acide *p*-aminobenzoïque par gramme d'acide aminé, est de 200 γ pour la *d*-arginine, 200 γ pour la *l*-histidine, 150 γ pour la *d*-lysine, 100 γ pour la *d*-l méthionine (1), 100 γ pour l'acide glutamique et 100 γ pour l'acide aspartique. D'autres acides aminés ont une action antisulfamide strictement nulle ; ce sont la phényl-alanine, la thréonine, la cystine, la tyrosine, le tryptophane ; d'autres enfin ont une action très légèrement bactériostatique : glycocolle, alanine, valine.

Nous avons réalisé un mélange d'acides aminés les plus actifs : arginine, histidine, lysine, méthionine. Ce mélange ne s'est pas révélé beaucoup plus actif que ses constituants.

Nous avons essayé, de plus, de reconstituer un mélange très voisin d'un hydrolysat ultime de myosine. Ce mélange s'est révélé pratiquement inactif. Cependant nous ne pouvons pas tirer des conclusions certaines de cette dernière observation, parce que la constitution du myosine lui-même n'est pas complètement connue. [On n'a pu doser

(*) Cette note paraîtra en *Mémoire* dans les *Annales de l'Institut Pasteur* (N. D. L. R.).

(1) KOHN et HARRIS avaient signalé en 1941 l'activité antisulfamide de la méthionine, *Am. J. Physiol. Soc.*, 1941, 133, 354.

jusqu'ici que 85 p. 100 des éléments qui interviennent dans la constitution de ce protide (2).]

Ce mélange jouit par contre de propriétés exaltantes nettes. C'est ainsi que, si l'on ajoute à 5 c. c. de milieu synthétique 5 mg. du mélange d'acides et 1 γ d'acide *p*-aminobenzoïque, ce nouveau mélange est susceptible de neutraliser une dose six fois plus forte de sulfamide que le mélange constitué de milieu synthétique seul et de la même quantité d'acide *p*-aminobenzoïque. (Les lectures sont faites au bout de vingt-quatre heures.)

Ajoutons que l'intensité du pouvoir exaltant diminue en fonction du temps. Dans les cultures âgées, il devient pratiquement nul. Ces résultats sont à rapprocher des remarques que nous venons de faire dans la note précédente.

Puisque les acides aminés sont peu ou pas actifs, on peut se demander si les peptides possèdent une activité plus marquée. Nous n'avons pu étudier que le glycol-tyrosine, le glycol-glycine, le glycyl-1 tryptophane et le diglycyl-glycine. Leur pouvoir antisulfamide est pratiquement nul.

Si l'on pratique une réaction de diazotation et la copulation avec le monochlorhydrate de la N- α -naphtyl N'diéthyl-propylène-diamine sur une culture âgée de quarante-huit heures de pneumobacille de Friedländer en milieu synthétique, on constate une très légère coloration rose. Si nous pratiquons la même réaction sur du bouillon ordinaire de viande non ensemencé, la réaction est négative. Par contre, après une culture de quarante-huit heures de pneumobacille de Friedländer, la diazoréaction du milieu sera nettement positive. Nous avons choisi le pneumobacille de Friedländer, car il n'élabore pas d'indol provoquant une coloration rouge en milieu acide après addition de nitrite.

Il nous est impossible pour l'instant d'affirmer que l'amine aromatique décelée dans le bouillon de culture où a végété le pneumobacille de Friedländer soit de l'acide *p*-aminobenzoïque. Qu'il nous soit permis néanmoins d'envisager cette hypothèse qui permettrait d'élucider en grande partie le rôle des antisulfamides de la peptone.

Nous avons vu qu'en milieu synthétique la production d'amine aromatique par *P. Friedlanderi* était minime. Par contre, en milieu peptoné cette élaboration serait extrêmement intense.

Dans le cas de *E. coli*, *P. Friedlanderi*, *Proteus vulgaris*, l'addition de peptone au milieu de culture provoquerait une plus grande élaboration d'acide *p*-aminobenzoïque et par conséquent d'antisulfamide. L'activité antisulfamide de la peptone ne serait ainsi pas directe mais ne pourrait se manifester que par l'intermédiaire de la cellule vivante.

Ceci n'est qu'une hypothèse et nous avons tenu à la signaler car elle pourrait élucider en grande partie le problème des antisulfamides de la peptone et permettre d'envisager le problème sur des bases physiologiques nouvelles.

(2) JAMES GARDEN SHARP, *Biochem. J.*, 1939, 33, 679.

INHIBITION DE L'ADAPTATION ENZYMATIQUE CHEZ *B. COLI* EN PRÉSENCE DE 2-4 DINITROPHÉNOL

par JACQUES MONOD.

Dans presque tous les cas qui ont été étudiés jusqu'ici, il semble que l'adaptation enzymatique chez les microorganismes ne se produise que dans des cultures en voie de croissance. Il importe évidemment beaucoup, pour l'interprétation du mécanisme de ce phénomène, de savoir s'il y a une relation obligatoire entre les synthèses et l'adaptation, ou s'il ne s'agit là que d'un lien indirect et plus ou moins fortuit. Or, presque tous les auteurs qui ont étudié cette question ont employé pour obtenir l'arrêt de la croissance le même procédé : suppression de l'aliment azoté. Karstrom (1) en particulier, à qui l'on doit le travail le plus complet sur cette question, a montré que chez différentes bactéries l'adaptation ne se produisait jamais en l'absence d'une source d'azote. On devait donc se demander si la croissance était bien réellement une condition essentielle de l'adaptation et si les résultats obtenus n'étaient pas dus, dans beaucoup de cas tout au moins, à ce que la présence d'une source azotée intervenait directement dans le mécanisme même de l'adaptation. Pour mettre cette objection à l'épreuve, il faut disposer d'un moyen qui permette de bloquer la croissance dans un milieu contenant tous les éléments nécessaires. Il faut, d'autre part, que l'agent employé n'exerce pas d'influence inhibitrice, si faible soit-elle, sur le mécanisme des oxydations. C'est pourquoi il m'a paru intéressant de rechercher quelle pourrait être l'action du 2-4 dinitrophénol (D.N.P.) sur l'adaptation enzymatique. On sait, en effet, d'une part que ce corps paraît capable à certaines concentrations de bloquer complètement les synthèses (2) et que, d'autre part, loin d'inhiber les oxydations, il les accroît généralement (3).

Technique. — La souche employée (*B. coli* « H » de la collection de l'Institut Pasteur) était entretenue sur un milieu synthétique contenant NH_4Cl , SO_4Mg , SO_4Fe , tamponné à pH 6,5 par un mélange de PO_4KH_2 et $\text{PO}_4\text{K}_2\text{H}$ à 5 p. 1.000 et contenant de la sorbite (à 4 p. 1.000) comme seul aliment carboné. Les mesures de respiration ont été faites par la méthode de Barcroft-Warburg. Les cultures étaient lavées deux fois par centrifugation avant chaque expérience, après quoi leur densité optique était déterminée à l'aide de l'appareil de Meunier. Le milieu employé pour les expériences n'était autre que la partie minérale du milieu synthétique mentionné ci-dessus, additionné suivant les cas de glucose, de xylose ou de lactose M/100.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX. — A. *Contrôles.* — Je me suis tout d'abord

(1) KARSTROM, *Erg. Enzymforsch.*, 1937, 7, 350.

(2) PLANTEFOL, *Ann. Physiol.*, 1932, 8, 124 et *Ann. Ferment.*, 1935, 1, 149.

(3) CLIFTON, *Enzymologia*, 1937, 4, 246.

assuré qu'à la concentration employée (M/1.000) le D.N.P. (4) bloquait effectivement la croissance. J'ai pu constater que le développement d'une culture sur glucosé, additionnée de D.N.P. alors qu'elle était en pleine phase exponentielle, est immédiatement bloqué, et qu'en douze heures à 37° sa densité optique n'augmente pas ou baisse de 3 à 4 p. 100. D'autre part, l'expérience résumée par le graphique 1 est destinée à contrôler l'effet du D.N.P. sur la respiration en présence de glucose, c'est-à-dire d'un glucide correspondant à un enzyme constitutif. On constate :

1° Que la respiration endogène est sensiblement la même en présence et en absence de D.N.P. (5).

2° Qu'en absence de D.N.P. l'intensité respiratoire de la suspension en milieu glucosé s'accroît avec le temps, ce qui traduit évidemment la croissance de la culture, alors que dans les mêmes conditions, mais en présence de D.N.P., on obtient une droite. Il est clair cependant que l'intensité respi-

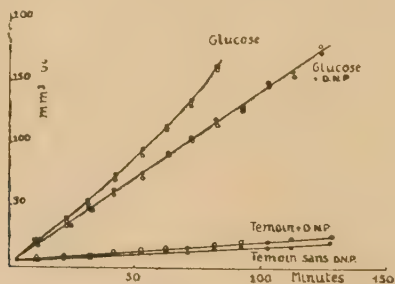


FIG. 1. — Consommation d'oxygène en millimètres cubes par centimètre cube d'une suspension de densité optique 400 en présence et en absence de D.N.P. M/1.000.

atoire est la même au début dans les deux cas, les courbes étant alors superposées, et cette expérience met bien en évidence le fait que le D.N.P. bloque la croissance sans diminuer la respiration.

B. *Expériences d'adaptation.* — J'ai utilisé comme glucides correspondant à des enzymes adaptatifs le xylose et le lactose. La figure 2 résume une expérience faite en présence de xylose. On voit que la respiration de la suspension bactérienne additionnée de D.N.P. ne s'accroît pas avec le temps et qu'elle est identique à la respiration endogène d'une suspension témoin privée de substrat oxydable. Au contraire, en l'absence de D.N.P., l'intensité respiratoire s'accroît avec le temps, exprimant l'adaptation progressive de la suspension bactérienne à l'utilisation du xylose. A titre de contrôle on a figuré également la respiration de la même suspension, additionnée de D.N.P., en présence de glucose. Mais on pourrait encore supposer que le D.N.P.

(4) Echantillon purifié par recristallisation, que je dois à l'extrême obligeance de M. R. Croland.

(5) On observe cependant fréquemment une légère augmentation en présence de D.N.P. Elle ne peut en l'occurrence être considérée comme significative, car elle ne dépasse pas les limites des erreurs possibles. Il est vraisemblable cependant qu'elle est réelle, eu égard aux résultats des auteurs qui ont étudié l'action du D.N.P. sur les levures (v. PLANTÉFOL, *loc. cit.*).

inhibe non pas l'adaptation mais le fonctionnement des enzymes adaptatifs, sans toucher à celui des enzymes constitutifs. Pour éliminer cette possibilité, l'expérience suivante a été réalisée : une culture ayant achevé sa croissance sur sorbite est additionnée de xylose (M/1.000 et divisée en deux fractions, dont l'une est additionnée de D.N.P. de façon à réaliser M/1.000 (fract. 1), l'autre d'un volume égal d'eau distillée (fract. 2). Après quoi ces deux cultures sont abandonnées pendant

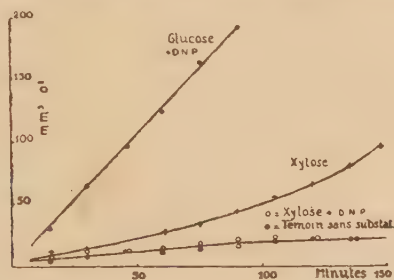


FIG. 2. — Mêmes conditions que dans la figure 1.

douze heures à 37° puis centrifugées, lavées et additionnées l'une et l'autre cette fois de D.N.P. On détermine ensuite leur respiration en présence de xylose (fig. 3). On voit que la culture I ne s'est pas adaptée

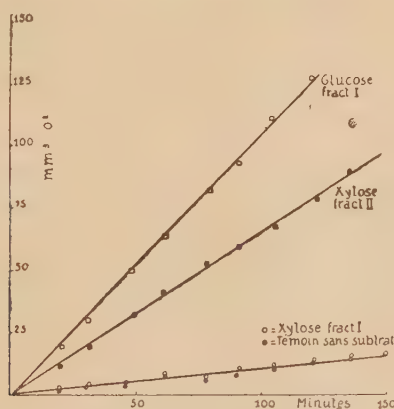


FIG. 3. — Mêmes conditions que dans les figures 1 et 2.
Fractions 1 et 2, voir explications dans le texte.

et qu'elle respire comme le témoin privé de substrat, alors que la culture II oxyde activement le xylose, quoique se trouvant elle aussi en présence de D.N.P. Cette expérience prouve donc bien que le D.N.P. est sans action sur l'enzyme en question une fois l'adaptation acquise. Cette expérience a été répétée avec le lactose comme substrat adaptatif et a donné des résultats identiques.

Discussion. — Ces expériences montrent donc que le D.N.P., quoique

n'inhibant en rien le fonctionnement des oxydations, inhibe cependant complètement l'adaptation lorsqu'il est employé à des doses qui bloquent la croissance. Les résultats sont identiques à ceux que l'on obtient par le procédé tout différent qui consiste à supprimer l'aliment azoté. Il n'y a donc pas de raison de supposer que la présence d'une source d'azote soit indispensable à l'adaptation, indépendamment de sa nécessité pour les synthèses. La conclusion qui se dégage de ces essais est donc encore que l'adaptation paraît liée aux processus de synthèse et vraisemblablement à la synthèse de la protéine spécifique elle-même.

Cependant, on ne saurait être tout à fait affirmatif à cet égard, puisqu'il s'agit de résultats négatifs. D'autre part, dans 2 cas connus il semble que l'adaptation puisse se produire en l'absence de toute prolifération. Il s'agit de la galactozymase de *S. cerevisiae* (6) et de l'hydrogênelyase de l'acide formique de *B. coli* (7).

Dans ces 2 cas cependant il a été démontré simplement que l'adaptation pouvait se manifester sans qu'il y eût augmentation corrélative du nombre de cellules, ce qui n'est évidemment pas une preuve absolue que dans les cultures en question il n'y ait pas eu augmentation de la quantité de substance vivante (8). Seules des mesures pondérales pourraient apporter des indications décisives à cet égard.

Ainsi, avant qu'il soit permis de conclure définitivement, il serait désirable que ces expériences fussent reprises. Il sera nécessaire d'autre part de contrôler l'effet sur l'adaptation de procédés aussi variés que possible de blocage des synthèses. En attendant, on doit reconnaître au moins que jusqu'ici il n'a jamais été démontré de façon certaine que l'adaptation enzymatique puisse se produire en l'absence de synthèse et qu'au contraire la grande majorité des résultats connus indiquent qu'il existe un lien étroit entre ces deux phénomènes.

(Faculté des Sciences de Paris.)

(6) STEPHENSON et YUDKIN, *Biochem. J.*, 1936, **30**, 506. — EULER et NILSSON, *Zeitschr. Physiol. Chem.*, 1925, **143**, 89.

(7) STEPHENSON et STICKLAND, *Biochem. J.*, 1933, **27**, 1528.

(8) Notons d'ailleurs que STEPHENSON et STICKLAND ainsi que STEPHENSON et YUDKIN cherchaient uniquement par ces expériences à prouver que l'adaptation peut se produire indépendamment de toute possibilité de sélection et que leurs résultats demeurent tout à fait démonstratifs à cet égard.

Le Gérant : G. MASSON.

TABLE ANALYTIQUE

DU TOME 70

<i>Acétylméthylcarbinol</i> . Etude botanique et biochimique des bactéries du genre <i>Bacillus</i> . Valeur du test de l' — pour la caractérisation des espèces.	65
<i>Aérobacter</i> . Caractères toxiques et antigéniques des extraits trichloracétiques des souches d'—	286
<i>Aérosols</i> . Vaccination antituberculeuse par les voies respiratoires. — et brouillards de BCG.	33
<i>Agglutination</i> réversible des <i>Moraxella</i> par les cations bi- ou polyvalents.	144
<i>Anticorps</i> . Nature des composés antigène-anticorps et leur solubilité.	291
<i>Antigène-anticorps</i> . Voir <i>Anticorps</i> .	
<i>Antigéniques</i> . Caractères toxiques et — des extraits trichloracétiques des souches d' <i>aerobacter</i> d'origine intestinale	286
<i>Antidiphthérique</i> . Dénaturation et pouvoir précipitant du sérum —	321
<i>Antistaphylococcique</i> . Activité — et mode d'action de la Pénicilline.	80
<i>Antisulfamide</i> . Fractionnement des peptones (multiplicité des facteurs antisulfamides)	366
<i>Autolyse</i> du bacille M. de Lemoigne.	173
<i>Bacille M</i> . Autolyse du — de Lemoigne.	
<i>Bacille paratyphique B</i> . Synergie lytique de deux bactériophages actifs sur le bacille paratyphique B.	155
— <i>tuberculeux</i> . Expériences d'infection par un seul — isolé au micromanipulateur.	357
<i>Bacillus</i> . Etude botanique et biochimique des bactéries du genre — (deuxième mémoire). Valeur du test des lipides β -hydroxybutyriques pour la caractérisation des espèces.	224
<i>Bacillus perfringens</i> . Action léthale de l'hémolysine α du — —	148
— — Comparaison des toxines élaborées par deux souches de — —	207
<i>B. perfringens</i> . Activité biologique des toxines œdematiens, vibrion septique, histolytique et perfringens obtenues dans des bouillons préparés depuis un certain temps.	86
— Action léthale de l'hémolysine α du <i>Bacillus</i> —	148
— Comparaison des toxines élaborées par deux souches de —	207
— Pouvoir anti-infectieux des sérums anti- —	332

<i>Bactéridie charbonneuse</i> . Voir <i>B. anthracis</i> .	
<i>Bactéries</i> . Etude botanique et biochimique des — du genre <i>Bacillus</i>	65
— Voir <i>Bacillus</i> .	
<i>Bactériophages</i> . Synergie lytique de deux — actifs sur le bacille paratyphique B.	155
<i>B. anthracis</i> (Bactéridie charbonneuse). Fractions protéidiques du liquide d'œdème charbonneux et des extraits de —.	129
— Recherches immunochimiques sur la Bactéridie charbonneuse.	16
<i>BCG</i> . Vaccination antituberculeuse par les voies respiratoires. Aérosols et brouillards de —.	33
<i>Brouillards de BCG</i> . Voir <i>BCG</i> .	
<i>Calcium</i> . L'ion — dans la physiologie du leucocyte.	372
<i>Charbon</i> . Recherches immunochimiques sur la bactéridie charbonneuse.	16 et 129
<i>Cobaye</i> . Recherches immunochimiques sur la bactéridie charbonneuse. Le liquide d'œdème de — et les polysides.	16
<i>Coenzymes</i> . Principe de dosage des — par le test <i>Hemophilus parainfluenzæ</i> . Application à l'urine.	37
<i>Déséquilibre alimentaire</i> . Œdème et phénomènes paralytiques par — — chez le singe <i>Macacus rhesus</i> en captivité.	105
<i>Eau de pluie</i> . Magnésium contenu dans l'— — récoltée à Paris.	234
<i>Floculation</i> . Réaction de — de la lèpre.	257 et 341
<i>Hémolysine</i> α . Action léthale de l'— du <i>Bacillus perfringens</i> .	148
<i>Hemophilus parainfluenzæ</i> . Principe du dosage des coenzymes par le test — —. Application à l'urine.	37
<i>Histolytique</i> . Activité biologique des toxines œdematiens, vibron septique, — et <i>perfringens</i> obtenues dans des bouillons préparés depuis un certain temps.	86
<i>Hydroxybutyriques</i> . Voir <i>Lipides</i> .	
<i>Lapin</i> . Etude quantitative du système précipitant ovalbumine-anticorps homologue de —.	7
<i>Lèpre</i> . Réaction de floculation de la —.	257 et 341
<i>Leucocytes</i> . L'ion calcium dans la physiologie du —.	372
<i>Levures</i> . Voir Rayons X.	
<i>Lipides</i> β -hydroxybutyriques. Etude botanique et biochimique des bactéries du genre <i>Bacillus</i> . Valeur du test des — — pour la caractérisation des espèces.	224
<i>Macacus rhesus</i> . Œdème et phénomènes paralytiques par déséquilibre alimentaire chez le singe — — en captivité.	105
<i>Magnésium</i> contenu dans l'eau de pluie récoltée à Paris.	234
<i>Moraxella</i> . Agglutination réversible des — par les cations bi- ou polyvalents.	144
<i>Œdematiens</i> . Activité biologique des toxines —, vibron septique, histolytique et <i>perfringens</i> obtenues dans des bouillons préparés depuis un certain temps.	86

Oedème et phénomènes paralytiques par déséquilibre alimentaire chez le singe <i>Macacus rhesus</i> en captivité.	105
— Recherches immunochimiques sur la bactériémie charbonneuse.	
Le liquide d' — de cobaye et les polyosides.	16
Ovalbumine-anticorps. Etude quantitative du système précipitant — — homologue de lapin.	7
Paralytiques (Phénomènes). Oedème et phénomènes — par déséquilibre alimentaire chez le singe <i>Macacus rhesus</i> en captivité.	105
Pénicilline. Activité antistaphylococcique et mode d'action de la —	80
Peptones. Fractionnement des — (multiplicité des facteurs anti-sulfamides).	366
Polyosides. Recherches immunochimiques sur la bactériémie charbonneuse. Le liquide d'oedème de cobaye et les —	16
Rayons X. Actions primaires comparées des — et ultraviolets sur la levure de <i>Saccharomyces ellipsoideus</i>	277
<i>Saccharomyces ellipsoideus</i> . Actions primaires comparées des Rayons X et ultraviolets sur la levure de — —	277
Sérum antidiphthérique. Dénaturation et pouvoir précipitant du — —	321
Sérums. Pouvoir infectieux des — anti- <i>perfringens</i>	332
Synergie lytique de deux bactériophages actifs sur le bacille paratyphique B.	155
Toxines. Comparaison des — élaborées par deux souches de <i>Bacillus perfringens</i>	207
— œdematiens, vibrion septique, histolytique et <i>perfringens</i> obtenues dans des bouillons préparés depuis un certain temps.	86
Tuberculeux (bacille). Expériences d'infection par un seul bacille — au micromanipulateur.	357
Tuberculose. Vaccination antituberculeuse par les voies respiratoires. Aérosols et brouillards de BCG.	33
— Expériences d'infection par un seul bacille tuberculeux isolé au micromanipulateur.	357
Ultracentrifugation. Constantes physiques du virus vaccinal déterminées par —	193
Ultraviolets. Actions primaires comparées des rayons X et — sur la levure <i>Saccharomyces ellipsoideus</i>	277
Urine. Principe du dosage des coenzymes par le test <i>Hemophilus parainfluenzæ</i> . Application à l' —	37
Vaccinal. Voir <i>Virus</i> .	
Vaccination antituberculeuse par les voies respiratoires. Aérosols et brouillards de BCG.	33
Vibrion septique. Activité biologique des toxines œdematiens, — histolytique et <i>perfringens</i> obtenues dans des bouillons préparés depuis un certain temps.	86
Virus vaccinal. Constantes physiques du — — déterminées par ultracentrifugation.	193

TABLE ALPHABETIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

DU TOME 170

† Emile MARCHOUX (1862-1943).

AUDUREAU (Alice). — Voir LWOFF (André). —	
BERTRAND (Gabriel). — Sur le magnésium contenu dans l'eau de pluie récoltée à Paris.	234
BOURGAIN (M.). — Voir PIROT (R.).	
BRECHOT (P.). — Voir HEITZMANN (P.).	
BRETEY (J.). — Expériences d'infection par un seul bacille tuberculeux isolé au micromanipulateur.	357
CHORINE (V.). — Nouvelle réaction de floculation de la lèpre. 257 et	341
CROSON (Mme Madeleine). — Voir LEMOIGNE (Maurice).	
DELAPORTE (Mlle Berthe). — Voir LEMOIGNE (Maurice). —	
DELAUNAY (Albert). — L'ion calcium dans la physiologie du leucocyte.	372
DERVICHIAN (D.). — Sur la nature des composés antigène-anticorps et sur leur solubilité	291
DUFAU-CASANABE (J.). — Voir PIROT (R.).	
FABRE (M.). — Voir GUILLAUMIE (Maylis).	
FAGUET (M.). — Voir NITTI (F.).	
FAURE (Mlle M.). — Voir LOISELEUR (J.).	
FOSSAERT (J.). — Voir NITTI (F.).	
GIUNTINI (J.). — Voir LÉPINE (P.).	
GRABAR (P.). — Voir OUDIN (J.) et STAUB (Anne-Marie).	
GRABAR (Pierre) et STAUB (Anne-Marie). — Recherches immunochimiques sur la bactériémie charbonneuse. II. Les fractions protéidiques du liquide d'œdème charbonneux et des extraits de <i>B. anthracis</i>	129
GUILLAUMIE (Maylis). — Activité biologique des toxines <i>œdematians</i> , <i>vibron septique</i> , <i>histolytique</i> et <i>perfringens</i> obtenues dans des bouillons préparés depuis un certain temps. .	86
— Remarques sur l'action léthale de l'hémolysine α du <i>Bacillus perfringens</i>	148
— KREGUER (A.) et FABRE (M.). — Activité anti-toxique appa-	

rente, titres anti- ζ , anti- α et pouvoir anti-infectieux des sérums anti- <i>perfringens</i>	332
— — — — — Comparaison des toxines élaborées par deux souches de <i>Bacillus perfringens</i>	207
HEITZMANN (P.) et BRECHOT (P.). — Sur l'autolyse du bacille M de LEMOIGNE.	173
KREGUER (A.). — Voir GUILLAUMIE (Maylis).	
LATARJET (Raymond). — Actions primaires comparées des rayons X et ultraviolets sur la levure <i>Saccharomyces ellipsoideus</i>	277
LE MELLETER (J.). — Voir TROISIER (J.).	
LEMOIGNE (Maurice), DELAPORTE (Mlle Berthe) et CROZON (Mme Madeleine). — Contribution à l'étude botanique et biochimique des bactéries du genre <i>Bacillus</i> (premier mémoire). Valeur du test de l'acétylméthylcarbinol pour la caractérisation des espèces.	65
— — — — — d° (deuxième mémoire). Valeur du test des lipides β -hydroxybutyriques pour la caractérisation des espèces.	224
LÉPINE (P.), LEVADITI (Jean-C.) et GIUNTINI (J.). — Sur les constantes physiques du virus vaccinal déterminées par ultra-centrifugation	193
LEVADITI (Jean-C.). — Voir LÉPINE (P.).	
LOISELEUR (J.), NITTI (F.) et FAURE (Mlle M.). — Relations entre la dénaturation et le pouvoir précipitant du sérum antidiph-térique.	321
LWOFF (André) et AUDUREAU (Alice). — L'agglutination réversible des <i>Moraxella</i> par les cations bi- ou polyvalents.	144
MOREL (Madeleine). — Principe de dosage des coenzymes par le test <i>Hemophilus parainfluenzæ</i> . Application à l'urine.	37
MOUSSET (H.). — Voir TABONE (J.).	
NICOLLE (Pierre). — Synergie lytique de deux bactériophages actifs sur le bacille paratyphique B (B. gp et B. pp).	155
NITTI (F.), FOSSAERT (J.) et FAGUET (M.). — Recherches sur l'activité antistaphylococcique et le mode d'action de la pénicilline.	80
NITTI (F.). — Voir LOISELEUR (J.), TABONE (J.).	
OUDIN (J.) et GRABAR (P.). — Etude quantitative du système précipitant ovalbumine-anticorps homologue de lapin. II. Solubilité des précipités spécifiques dans une solution saline concentrée.	7
PIROT (R.), BOURGAIN (M.) et DUFAU-CASANABE (J.). — Caractères toxiques et antigéniques des extraits trichloracétiques des souches d' <i>aerobacter</i> d'origine intestinale.	286
SIFFERLEN (J.). — Voir TROISIER (J.).	
STAUB (Anne-Marie). — Voir GRABAR (Pierre).	
— et GRABAR (Pierre). — Recherches immunochimiques sur la	

bactériémie charbonneuse. I. Le liquide d'œdème de cobaye et les polysides.	16
STÉFANOPOULO (G. J.). — Œdème et phénomènes paralytiques par déséquilibre alimentaire chez le singe <i>Macacus rhesus</i> en captivité.	105
TABONE (J.), NITTI (F.) et MOUSSET (H.). — Etudes sur le pouvoir anti-sulfamide. IX. Essais de fractionnement des peptones (multiplicité des facteurs antisulfamides).	366
TROISIER (J.), LE MELLETIER (J.) et SIFFERLEN (J.). — La vaccination antituberculeuse par les voies respiratoires. Aérosols et brouillards de BCG.	33

ASSOCIATION DES MICROBIOLOGISTES DE LANGUE FRANÇAISE

(Institut Pasteur, 25, rue du Docteur-Roux, Paris, 15°.)

EXTRAIT DES STATUTS :

Article premier. — L'association dite Association des Microbiologistes de Langue Française, fondée en 1937 à Paris, a pour but de grouper les Microbiologistes de langue française et de créer entre eux un lien. Elle a son siège à Paris.

Elle se compose de membres nationaux et de membres étrangers de toutes langues.

La langue française est la langue officielle des Congrès de l'Association.

Art. 2. — Elle est instituée uniquement pour l'étude et la discussion en commun de toutes les branches de la Science microbiologique.

Art. 3. — Peut faire partie de l'Association toute personne remplissant une fonction scientifique dans un laboratoire de Microbiologie (Microbiologie, Pathologie infectieuse, Immunologie, Chimiothérapie, Cancérologie), ou ayant publié des travaux de Microbiologie.

.....
Art. 9. — Les auteurs des communications et démonstrations devront être membres de l'Association. Les étrangers à l'Association ne seront acceptés comme auteurs que s'ils ont pour co-signataires un membre de l'Association, ou s'ils ont été invités par le Bureau à faire une communication, ou si un membre de l'Association ayant assisté aux recherches rapportées se charge de discuter le travail en séance.

Les membres français de l'Association constituent *ipso facto* et de plein droit, la SECTION FRANÇAISE de l'ASSOCIATION INTERNATIONALE DE MICROBIOLOGIE.

En dehors des Congrès, dont la périodicité et la date sont fixées par l'Assemblée Générale sur la proposition du Bureau, l'Association se réunit en séances consacrées à des communications scientifiques, le *premier jeudi de chaque mois* (août et septembre exceptés), à 16 heures. Les séances ont lieu au Grand Amphithéâtre de l'Institut Pasteur ; elles sont publiques.

Les membres désirant présenter des communications sont priés d'en aviser le Secrétaire général, et de lui en communiquer le titre, pour permettre l'établissement de l'ordre du jour de la réunion.

Le texte des communications doit être remis à la séance, établi *ne varietur*, en exemplaire dactylographié original. La bibliographie

des auteurs cités sera établie, conformément aux règles admises par l'Association Internationale de Microbiologie, dans l'ordre suivant : *nom* de l'auteur, *titre* du périodique (en abrégé et en italiques), *année* de publication, *tome* (en chiffres arabes gras), *page*. Les signes t., p., etc., sont supprimés. Les abréviations des noms de périodiques courants figurent sur une liste qui sera adressée aux auteurs sur leur demande. Les figures illustrant le texte doivent être remises avec leurs clichés typographiques, sinon il pourra en résulter des délais de publication. La Rédaction se charge, le cas échéant, de faire faire tous les dessins, graphiques, tracés, et de faire cliquer, aux frais des auteurs, tous les documents qui lui seront adressés à temps, soit huit jours au moins avant la séance, pour parution dans le numéro suivant des *Annales de l'Institut Pasteur*.

En raison des restrictions apportées aux publications par les circonstances actuelles, le texte de chaque communication ne pourra occuper plus de deux pages de l'emplacement réservé dans les *Annales de l'Institut Pasteur*, soit environ 1.200 mots. Les références bibliographiques et les clichés, s'il y en a, seront compris dans cet espace. Toute communication dépassant ce maximum sera retournée à son auteur, ou devra avoir été préalablement acceptée par la Rédaction des *Annales de l'Institut Pasteur*, pour y paraître en Mémoire.

Le Secrétaire général : P. LÉPINE.

Séance du 2 décembre 1943.

SOMMAIRE

Septicémies, hémocultures et formes évolutives des bactéries, par R. NATIVELLE.	376
Comportement des acides laminés vis-à-vis du <i>p</i> -aminophénylesulfamide (leur rôle probable dans le mécanisme de l'action antisulfamide), par F. NITTI, J. TABONE et H. MOUSSET.	379
Inhibition de l'adaptation enzymatique chez <i>B. coli</i> en présence de 2-4-dinitrophénol, par JACQUES MONOD.	381